

Speziation von Gadolinium-MRT-Kontrastmitteln in Umweltmatrizes

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

d o c t o r r e r u m n a t u r a l i u m

(Dr. rer. nat.)

im Fach Chemie

eingereicht an der

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl.-Chem. Uwe Lindner

Präsidentin der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Sabine Kunst

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Prof. Dr. Elmar Kulke

Gutachter/innen: 1. Prof. Dr. Ulrich Panne

2. Prof. Dr. Michael W. Linscheid

Tag der mündlichen Prüfung: 12.07.2017

0 Inhaltsverzeichnis

Kapitel

1	Abkürzungsverzeichnis.....	8
2	Kurzfassung	10
3	Abstract	11
4	Einleitung.....	13
5	Zielstellung	14
6	Grundlagen.....	14
6.1	Kontrastmittel.....	14
6.2	Gadolinium.....	15
6.3	Gadolinium basierte MRT-Kontrastmittel	16
6.3.1	Diagnostische Anwendung	16
6.3.2	Eintrag von Gd-Kontrastmittel in die Umwelt.....	20
6.4	Toxizität von Gadolinium und Gadolinium basierten Kontrastmitteln	22
6.5	Transmetallierung und Abbau von Gd-Kontrastmitteln	25
6.6	Gadolinium-Anomalie	32
6.7	(Berliner) Trinkwasser/Abwassersystem	34
6.8	ICP-MS – Induktiv gekoppelte Plasma – Massenspektrometrie.....	36
6.9	HPLC – Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	41
6.9.1	ZIC-HILIC – Hydrophile Interaktionschromatographie	44
6.10	Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln	46
6.11	Gadolinium in Pflanzen und Organismen	49
6.12	Anreicherungstechniken.....	50
6.13	Schlussfolgerung	52
7	Experimenteller Teil	53
7.1	ICP-MS Parameter und ICP-MS Metallanalyse	53
7.2	Optimierung der Speziesanalytik.....	54
7.2.1	Optimierung der Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS	54
7.2.2	Optimierung der Speziesanalytik mittel RP-HPLC – UV/VIS.....	57

7.2.3	Interner Standard für Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS	58
7.3	Anreicherungsverfahren für Gd-Kontrastmittel	59
7.3.1	Anreicherung von Wasserproben mittels Verdampfung	59
7.3.2	Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf SAX	60
7.3.3	Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle	60
7.3.4	Anreicherung von Oberflächenwasser auf Aktivkohle.....	62
7.4	Optimierung der Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrices	63
7.4.1	Extraktion von Gd-Kontrastmittel aus Umweltmatrices	63
7.4.2	Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Modell-Pflanzen	64
7.5	Untersuchung von Oberflächen- und Trinkwasser	66
7.5.1	Gd Anomalie im Oberflächenwasser und Trinkwasser	66
7.5.2	Gadolinium und Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser	66
7.5.3	Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser	67
7.6	Gd-Kontrastmittel in Pflanzen	68
7.7	Gd-Kontrastmittel in Fischen	69
7.8	Chemikalien und Geräte	69
7.8.1	Verwendete Chemikalien	69
7.8.2	Verwendete Geräte	71
7.9	Verwendete Software	71
8	Ergebnisse (Methodenentwicklung und Optimierung)	72
8.1	Einleitung der Ergebnisse	72
8.2	Optimierung ICP-MS	72
8.2.1	Allgemeine Einleitung.....	72
8.2.2	Multielement Analytik mittels ICP-MS	73
8.2.3	HPLC - ICP-MS Kopplung.....	73
8.3	Optimierung und Aufbau der Speziesanalytik	75
8.3.1	Allgemeine Einleitung.....	75
8.3.2	Optimierung und Aufbau der Speziesanalytik mittels ZIC-HILIC-ICP-MS	75
8.3.3	Optimierung und Aufbau der Speziesanalytik ZIC-cHILIC-ICP-MS	79
8.3.4	Optimierung der Speziesanalytik mittel RP-HPLC – UV/VIS.....	90
8.3.5	Interner Standard für die Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS	95
8.4	Anreicherungsverfahren für Gd-Kontrastmittel	99

8.4.1	Allgemeine Einleitung.....	99
8.4.2	Anreicherung von Wasserproben mittels Verdampfung	99
8.4.3	Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf Anionenaustauscher Material.....	100
8.4.4	Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle	102
8.5	Optimierung der Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrizes	110
8.5.1	Optimierung der Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrizes	110
8.5.2	Extraktion von Gd-Kontrastmittel aus Pflanzen (Lepidium Sativum)	113
9	Ergebnisse (Anwendungen)	115
9.1	Einleitung der Ergebnisse	115
9.2	Untersuchung von Oberflächenwasser	115
9.2.1	Gd Anomalie im Oberflächenwasser.....	115
9.2.2	Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser	117
9.2.3	Anreicherung von Oberflächenwasser auf Aktivkohle.....	120
9.3	Untersuchung von Pflanzen.....	122
9.3.1	Gd Anomalie in Pflanzen	122
9.3.2	Gd-Kontrastmittel in Pflanzen in Klärwerkwasserumgebung.....	124
9.4	Untersuchung von Fischen	129
9.4.1	Gd Anomalie in Fischen	129
9.4.2	Gd-Kontrastmittel in Fischen	131
9.5	Untersuchung von Trinkwasser	133
9.5.1	Gd Anomalie im Trinkwasser.....	133
9.5.2	Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser	133
10	Zusammenfassung und Ausblick	141
11	Literatur.....	144
12	Eigene Publikationen.....	164
13	Selbstständigkeitserklärung	165
14	Danksagung.....	166

Tabellen

Tabelle 1: Isotope des Elementes Gadolinium und deren Häufigkeit.....	15
Tabelle 2: Übersicht über Gadolinium-MRT-Kontrastmittel in klinischen Anwendungen	17
Tabelle 3: Stabilitätskonstanten von Gd-Kontrastmitteln	22
Tabelle 4: Stabilitätskonstanten von verschiedenen Metall-DTPA Spezies.....	26
Tabelle 5: Halbwertszeit der Dissoziation von Gd-Kontrastmitteln	28
Tabelle 6: Gleichgewichtskonstanten von typischen Gd-Verbindungen im Wasser	29
Tabelle 7: Seltene Erden Gehalt in PAAS.....	33
Tabelle 8: ICP-MS Parameter für das Agilent 7500cs.....	53
Tabelle 9: ICP-MS Parameter für das iCAP-Q.....	54
Tabelle 10: ICP-MS Parameter (iCAP-Q) für die Koppelung mit HPLC	54
Tabelle 11: Kenndaten der HPLC-Säulen.....	55
Tabelle 12: Kenndaten der MOS-1 Hypersil HPLC-Säule.....	57
Tabelle 13: HPLC-Gradient für die Analyse von negativ geladenen Gd-Kontrastmitteln	58
Tabelle 14: Konditionen für die Mikrowellenextraktion	65
Tabelle 15: Veränderung der Peakbreiten durch Optimierung der HPLC-ICP-MS Kopplung ..	77
Tabelle 16: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die ZIC-HILIC - ICP-MS Methode	79
Tabelle 17: Vergleich der Signale bei Zugabe von NH ₃ zur Gd-Kontrastmittel Probe	86
Tabelle 18: Säulen-Wiederfindungsrate von Gd-Kontrastmitteln auf der ZIC-chILIC Säule	87
Tabelle 19: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Speziesanalytik mit ZIC-chILIC.....	90
Tabelle 20: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Trennung von Gd-DTPA und DTPA	93
Tabelle 21: HPLC Gradient für die Trennung von Gd-Kontrastmitteln	95
Tabelle 22: Relative Standardabweichung mit und ohne internen Standard Pr-DOTA.....	97
Tabelle 23: Relative Standardabweichung mit und ohne internen Standard Sm-DTPA.....	97
Tabelle 24: Variation des Injektionsvolumens, korrigiert mit internen Standard Pr-DOTA	98
Tabelle 25: Variation des Injektionsvolumens, korrigiert mit internen Standard Sm-DTPA ...	98
Tabelle 26: Anpassung der Intensitäten vom Vortag mittels internen Standards.....	98
Tabelle 27: Vergleich von gespickter wässriger Lösung – vor und nach Volumeneinengung	100
Tabelle 28: Beladung von Gd-Kontrastmitteln auf dem SAX-Material	100
Tabelle 29: Elutionsausbeute der geladenen Kontrastmitteln von SAX-Material	101
Tabelle 30: Beladungs- und Elutionsausbeute von Gd-DTPA auf SAX-Material	102
Tabelle 31: Beladung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle.....	103

Tabelle 32: Beladung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle – Variation der Matrix.....	103
Tabelle 33: Beladung von Gd-Kontrastmitteln – Variation der Beladungszeit	104
Tabelle 34: Beladung auf Aktivkohle in Abhängigkeit zur verwendeten Aktivkohlemenge ..	104
Tabelle 35: Beladung von Gd Kontrastmitteln aus 1 L gespiktem Wasser auf Aktivkohle	105
Tabelle 36: Elutionsausbeute bei der Variation des Acetonanteils im Eluenten	106
Tabelle 37: Elutionsausbeute bei der Variation der Ammoniak-Konzentration	106
Tabelle 38: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle.....	107
Tabelle 39: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln nach Einengung des Eluenten	107
Tabelle 40: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle.....	108
Tabelle 41: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle.....	109
Tabelle 42: Extraktionsausbeuten von Gd-DTPA aus Fisch- und Pflanzenmatrix	111
Tabelle 43: Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von der Extraktionszeit	111
Tabelle 44: Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus gespikter Fischmatrix	112
Tabelle 45: Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus gespiktem Pflanzenmaterial.....	112
Tabelle 46: Ausbeuten für die Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Pflanzen	114
Tabelle 47: Gd-Spezies im Teltowkanal.....	119
Tabelle 48: Bestimmung der Gd-Spezies im Teltowkanal nach Anreicherung	122
Tabelle 49: Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser von Teltowkanal	125
Tabelle 50: Gehalte der Gd-Kontrastmittel in Pflanzen (Standort 1).....	127
Tabelle 51: Gehalt der Gd-Kontrastmittel in Pflanzen (Standort 2).....	127
Tabelle 52: Gd-Kontrastmittel im Fischinnereien	132
Tabelle 53: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser von Berlin	134
Tabelle 54: Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser (Nähe Wannsee)	138

Abbildungen

Abbildung 1: Häufig verwendete Gadolinium-MRT-Kontrastmittel	18
Abbildung 2: Gadolinium-Anomalie im Klärwerkwasser	33
Abbildung 3: Berliner Wasser- und Klärwerke und deren Auslassstellen.....	35
Abbildung 4: Aufbau eines ICP-MS Gerätes (schematisch).....	36
Abbildung 5: Aufbau einer HPLC-Einheit (schematisch)	42
Abbildung 6: Schematischer Vergleich der Zwitterionischen Stationären Phasen.....	44
Abbildung 7: Gd-Speziesanalytik vor und nach dem Klärwerk Wassmannsdorf	48
Abbildung 8: Optimierung des Eluenten durch Variation des Ammoniumacetatanteils	76
Abbildung 9: Vergleich von Gd-Kontrastmittel in wässriger Matrix sowie in Acetonitril.....	78
Abbildung 10: Trennung von Gd-Kontrastmittel auf der ZIC-cHILIC.....	80
Abbildung 11: Vergleich von verschiedenen Acetonitrilkonzentration im HPLC-Eluenten	81
Abbildung 12: Vergleich von Ammoniumacetatkonzentrationen im Eluenten	82
Abbildung 13: Variation der HPLC-Flussgeschwindigkeit.....	82
Abbildung 14: Trennung von Gd-Kontrastmitteln bei pH = 5,8 des Eluenten	83
Abbildung 15: Einfluss vom pH-Wert des Eluenten auf die Trennung mit der ZIC-cHILIC.....	84
Abbildung 16: Optimierte Trennung auf der ZIC-cHILIC Säule.....	85
Abbildung 17: Einfluss der Acetonitril-Konzentration in der Probe auf die Trennung	85
Abbildung 18: Gd-Kontrastmittel und Pr-DOTA bei unterschiedlicher Probenvorbereitung..	86
Abbildung 19: HPLC-ICP-MS Chromatogramm von fünf Gd-Kontrastmitteln und Artefakt	88
Abbildung 20: Elution von Gd ³⁺ mittels NH ₄ Ac von der ZIC-cHILIC Säule	89
Abbildung 21: HPLC-Chromatogramm des Gd-Kontrastmittels Gd-DTPA und DTPA	92
Abbildung 22: Trennung von Gd-DTPA und DTPA mit optimierten Bedingungen.....	92
Abbildung 23: Trennung von Dotarem, Magnevist, Multihance auf RP-Säule	94
Abbildung 24: Trennung von Gd-DOTA, Gd-DTPA, Gd-BOPTA mittels Gradientenelution	95
Abbildung 25: Gd-Kontrastmitteln und interne Standards.....	96
Abbildung 26: Elutionsausbeuten in Abhängigkeit des Elutionsvolumens.....	109
Abbildung 27: Extraktion von Gd-DTPA aus Fisch- und Pflanzenmatrix	111
Abbildung 28: Beprobungsort Teltowkanal, Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf	115
Abbildung 29: Gd-Anomalie im Oberflächenwasser vom Teltowkanal	116
Abbildung 30: Ortsprofil der Gd-Konzentrationen im Teltowkanal.....	117
Abbildung 31: Gd-Kontrastmittel im Teltowkanal	119

Abbildung 32: Auf Aktivkohle angereichertes Oberflächenwasser vom Teltowkanal.....	121
Abbildung 33: Beprobungsorte von Pflanzen am Ufer des Teltowkanals	122
Abbildung 34: PAAS normalisierte Gehalte von Seltenen Erden in Pflanzen	123
Abbildung 35: Gd-Kontrastmittel in Pflanzenproben vom Ufer des Teltowkanals.....	124
Abbildung 36: Gd-Kontrastmittel in Oberflächenwasser an der Pflanzenentnahmestelle ...	125
Abbildung 37: Gd-Kontrastmittel in Pflanzen vom Teltowkanal.....	126
Abbildung 38: Gd-Kontrastmittel in Pflanzen vom Ufer des Teltowkanals	128
Abbildung 39: Unbekanntes Gd-Signal im Pflanzenextrakt	129
Abbildung 40: Fische aus dem Teltowkanal	130
Abbildung 41: PAAS normalisierte Gehalte Seltener Erden im Fisch.....	131
Abbildung 42: Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus den inneren Organe des Fisches	132
Abbildung 43: Gd-Anomalie im Trinkwasser	133
Abbildung 44: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser aus Berlin-Salzufer.....	135
Abbildung 45: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser aus Berlin-Steglitz.....	136
Abbildung 46: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser über einen Zeitraum von einer Woche ...	137
Abbildung 47: Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser der Havel-Berlin.....	138
Abbildung 48: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser Berlin-Westend über mehrere Monate ..	139

Formeln

Formel 1: Allgemeine Formulierung für die thermodynamische Gleichgewichtskonstante...	21
Formel 2: Selektive Stabilitätskonstanten für Gd-Kontrastmittel.....	22
Formel 3: Transmetallierung von Gd-Kontrastmitteln.....	25
Formel 4: Transmetallierung durch polynukleare Chelatbildung	25
Formel 5: Photolytischer Abbau von Fe-DTPA	31
Formel 6: PAAS-Normalisierung.....	32
Formel 7: PAAS Normalisierung	116

1 Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
CE	Kapillarelektrophorese (engl. capillary electrophoresis)
cps	Pulse pro Sekunde (engl. counts per second)
CYP450	Cytochrom P450
CT	Computertomographie
CCT	Kollisionszelle (engl. collision cell technology)
DIHEN	direkter Injektionszerstäuber (engl. direct injection high efficiency nebulizers)
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ED3A	Ethylendiamintriessigsäure
EDDA	Ethylendiamindiessigsäure
engl.	englisch
et al.	und andere
GC	Gaschromatographie
Gd	Gadolinium
Gd-DOTA	Gadotersäure, Dotarem
Gd-DTPA	Gadopentetatsäure, Magnevist
Gd-DTPA-BMA	Gadodiamin, Omniscan
Gd-EOB-DPTA	Gadoxetat, Primovist
Gd-BOPTA	Gadobenatsäure, Multihance
Gd-BT-DO3A	Gadobutrol, Gadovist
HDEHP	Bis-(2-ethylhexyl)-hydrogenphosphat
HILIC	Hydrophile Interaktionschromatographie
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie
ICP	Induktiv gekoppeltes Plasma
IR	Infrarot
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
K _{therm.}	Thermodynamische Gleichgewichtskonstante

LD ₅₀	mittlere letale Dosis
LOD	Nachweisgrenze (engl. limit of detection)
LOQ	Bestimmungsgrenze (engl. limit of quantitation)
MRI	Magnetresonanztomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
NSF	Nephrogene Systemische Fibrose
NTA	Nitrilotriessigsäure
PAAS	Schiefer des Post-Archaikum Erdzeitalter (engl. Post Archean Australian Shales)
PE	Polyethylen
PEEK	Polyetheretherketon
PFA	Perfluoralkoxy-Polymere
PP	Polypropylen
ppm	Teil pro Million (engl. parts per million)
QMS	Quadrupol Massenspektrometrie
RC	regenerierte Cellulose
REE	Seltene Erden (engl. rare earth elements)
RSD	relative Standardabweichung (engl. relative standard deviation)
SAX	starker Anionenaustauscher (engl. strong anion exchange)
SPE	Festphasenextraktion (engl. solid phase extraction)
TOF	Flugzeit (engl. time of flight)
v/v	Volumen / Volumen
ZIC	Zwitterionen (engl. zwitter ionic)

2 Kurzfassung

Gd-Kontrastmittel werden in der Medizin für die Magnetresonanztomographie (MRT) benötigt, um einen besseren Bildkontrast zu erzielen. Nach der Anwendung gelangen diese Arzneimittel über das Abwasser in die Klärwerke und von dort in die jeweiligen anliegenden Oberflächengewässer. Somit wird es notwendig, den Verbleib der Gd-MRT-Kontrastmittel in der Umwelt zu verfolgen und aufzuklären.

In dieser Arbeit werden für die Analyse von Umweltproben Methoden zur Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln entwickelt und optimiert. Hierbei wird u.a. die Zwitterionische Hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) verwendet, die mit einer Induktiv-gekoppelten Plasma – Massenspektrometrie (ICP-MS) gekoppelt ist. Die Nachweisgrenzen lagen je nach Gd-Kontrastmittel zwischen 1–4 ng Gd L⁻¹.

Zudem wurde für sehr geringe Konzentrationen der Gd-Kontrastmittel eine Spezies-konservierende Anreicherung mit einem starken Anionenaustauscher-Material (SAX) und mit Aktivkohle untersucht. Unabhängig von einander konnten mit der jeweiligen Methode alle Gd-Kontrastmittel gleichzeitig und vollständig auf das Material beladen und ohne Metallverlust wieder eluiert werden, sodass eine anschließende Gd-Speziesanalyse möglich war.

Mit der Gd-Speziesanalytik wurden verschiedene Oberflächenwasser in Berlin und Umgebung analysiert. Dabei wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A, Gd-DTPA, Gd-DOTA und Gd-BOPTA mit Konzentrationen von bis zu 800 ng Gd L⁻¹, direkt an der Auslassstelle des Klärwerks, im Oberflächenwasser detektiert. Die Konzentration wurde über 5 km flussabwärts, nach Eintrag vom Klärwasser ins Oberflächenwasser, verfolgt. Hierbei wurde lediglich eine Konzentrationsabnahme durch den Verdünnungseffekt beobachtet. Es zeigte sich kein signifikanter Abbau oder eine Dekomplexierung der Gd-Kontrastmittel.

Zudem wurden Fische aus dem Oberflächenwasser von Berlin analysiert. Hierbei wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A mit einem Gehalt von 108–114 ng Gd kg⁻¹ bzw. 68–81 ng Gd kg⁻¹ in den inneren Organen detektiert. Ebenfalls wurde eine Extraktion von Gd-Kontrastmittel aus Pflanzen untersucht, die am Ufer des Oberflächengewässers wuchsen. Auch hier konnten die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA sowie Gd-DTPA nachgewiesen werden, also jene, die auch im Oberflächenwasser gefunden wurden. Allerdings variieren die Konzentrationen stark, je nach Pflanze zwischen 0–1,6 µg Gd kg⁻¹.

Zudem wurden Trinkwasserproben von verschiedenen Standorten aus Berlin analysiert. Hier wurden im Westteil von Berlin, in dem auch die Gd-Kontrastmittelkonzentration im Oberflächenwasser am Größten ist, die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA und Gd-DTPA gefunden. Die Konzentrationen im Trinkwasser lagen zwischen 10–20 ng Gd L⁻¹. Damit kann der Weg der Gd-Kontrastmittel von den Krankenhäusern und Kliniken über die Klärwerke in die Oberflächengewässer und schließlich über Uferfiltration und Grundwasseranreicherung bis ins Trinkwasser und somit in die städtische Nahrungskette aufgezeigt werden.

3 Abstract

Gd based contrast agents are used for medical magnetic resonance imaging (MRI) to enhance the contrast of the image. After application and excretion, the drugs pass through the wastewater treatment plant (WWTP) and make their way into the surrounding surface water bodies. This makes it necessary to monitor the fate of the Gd based contrast agents in the environment.

In this work, methods for speciation analysis of Gd based contrast agents in environmental samples were developed and optimised. For this purpose i.a. zwitterionic hydrophilic interaction chromatography (HILIC) is used, which is hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The limits of detection are between 1–4 ng Gd L⁻¹ depending on the contrast agent.

For very low concentration of Gd based contrast agents, an enrichment that conserves the Gd species with a strong anion-exchange material (SAX) and a second method using activated carbon was investigated. With both methods all species of interest could be enriched and fully recovered. This made a subsequent Gd species analysis possible.

For several surface water samples from Berlin area and surroundings Gd species were investigated and the Gd based contrast agents Gd-BT-DO3A, Gd-DTPA, Gd-DOTA and Gd-BOPTA were detected with concentrations of up to 800 ng Gd L⁻¹ directly at the influx point of WWTPs into the surface water. The concentrations were also investigated over a distance of 5 kilometres downstream, but only a concentration decrease due to the dilution effect was observed in the first kilometres. After a complete mixing of the waste water with river water, the concentration remained constant. No significant degradation or decomplexing of the Gd based contrast agents were observed in the chromatograms so far.

In addition, fish living in the surface water of rivers and lakes in Berlin were analysed. Here the Gd based contrast agents were detected in the viscera with a content of 108–114 ng Gd kg⁻¹ and 68–81 ng Gd kg⁻¹ respectively. Furthermore, an extraction of Gd based contrast agents from plants growing directly at the shore was investigated. The Gd based contrast agents Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA and Gd-DTPA could be detected again, which are the same compounds previously detected in the surface water. However, the concentrations varied highly between different plants with concentrations ranging from 0–1,6 µg Gd kg⁻¹.

Additionally, tap water samples from different sampling sites in Berlin were investigated. Only in the western part of Berlin, where we have already detected high concentrations of Gd based contrast agents in the surface water, the same Gd based contrast agents, namely Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA and Gd-DTPA, were detected in tap water with concentrations of 10–20 ng Gd L⁻¹. This demonstrates the pathway of the Gd based contrast agents from the hospitals and clinics via the WWTP into surface water and through bank filtration and groundwater enrichment into the tap water. This finding indicates that Gd based contrast agents can enter the urban food chain.

4 Einleitung

Gadolinium basierte Kontrastmittel werden seit über 25 Jahren in Krankenhäusern und Kliniken für die Magnetresonanztomographie (MRT) verwendet. Dabei wird das Gd-Kontrastmittel dem Patienten verabreicht, um einen besseren Kontrast bei der Bildgebung zu erzielen. In Deutschland wurden 100 MRT Scans pro 1000 Einwohner im Jahr 2009 durchgeführt, wobei die Zahl der Anwendungen mit einer Tendenz von ca. 6,6 % pro Jahr ansteigt [1]. In 25–30 % aller Fälle kam ein Kontrastmittel zum Einsatz. Da freie Gadoliniumionen eine hochtoxische Wirkung aufweisen, werden sie mit einem Polyaminocarboxylate-Chelatkomplex gebunden und so als sehr stabile Gd-Komplexe verabreicht. Diese Gd-Kontrastmittel werden normalerweise schon nach wenigen Stunden unmetabolisiert wieder ausgeschieden. Allerdings kann die Ausscheidung durch z.B. Niereninsuffizienz erheblich reduziert werden, sodass erhöhte Mengen an Gd^{3+} durch Transmetallierung und Abbau der Gd-Chelate im Körper freigesetzt werden können. Diesbezüglich wird ein Zusammenhang zum Krankheitsbild der Nephrogenen Systemischen Fibrose (NSF) diskutiert. NSF ist eine Erkrankung, die zu einer irreversiblen Verhärtung der Haut und von Organe führt und tödlich enden kann.

Die ausgeschiedenen Gd-Kontrastmittel gelangen ohne vorherige Abtrennung oder Aufreinigung von den Krankenhäusern in die Klärwerke. Dort wird allerdings nur ca. 10 % des Gadoliniums aus dem Wasser entfernt. Dies bedeutet, dass 90 % der Gd-Kontrastmittel über das geklärte Wasser in die Oberflächengewässer gelangen [2]. Die erhöhte Gadoliniumkonzentration wurde erstmals 1996 in den Gewässern beschrieben und als Gadoliniumanomalie bezeichnet [3]. Weitere Studien zeigten, dass eine Gd-Anomalie überall dort zu finden ist, wo Gd-MRT-Kontrastmittel in Krankenhäusern zum Einsatz kommen [3-15].

Da der Einsatz von Gd-Kontrastmitteln in der MRT stetig ansteigt, ist es unbedingt erforderlich Methoden zu entwickeln, um den Verbleib von Gd-Kontrastmitteln in der Umwelt aufklären zu können.

5 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit ist die Detektion, Identifizierung und Quantifizierung von Gd-basierten MRT-Kontrastmitteln in der Biosphäre, um den Verbleib von Gd-Kontrastmitteln in der Umwelt aufzuklären. Deshalb ist es die Aufgabe dieser Arbeit eine Methode zu entwickeln, die eine Trennung verschiedener Gd-Kontrastmittel in Umweltkompartimenten (Pflanzen, Fischen, Oberflächen- und Trinkwasser) erlaubt, um die Detektion der Gd-Kontrastmittel zu ermöglichen. Diese Methode sollte empfindlich und robust sein und eine quantitative Bestimmung ermöglichen.

Zudem soll eine Möglichkeit zur Extraktion, Anreicherung und Detektion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrices entwickelt werden, um damit zu einem besseren Verständnis über den Verbleib von Gd-MRT-Kontrastmitteln in der Umwelt beitragen zu können.

6 Grundlagen

6.1 Kontrastmittel

Die Gruppe der bildgebenden Verfahren gehört zu den wichtigsten diagnostischen Methoden in der klinischen Medizin. Um zusätzliche Informationen in diesem bildgebenden Verfahren zu erhalten, werden sogenannte Kontrastmittel eingesetzt, die zur Verstärkung des Bildkontrastes führen. Die Verbesserung des Kontrastes kann über die Verstärkung oder Schwächung des Signales erfolgen. Dementsprechend werden sie als positive bzw. negative Kontrastmittel bezeichnet.

Typische Verfahren, in der Kontrastmittel eingesetzt werden, sind die Radiographie und die Magnetresonanztomographie (MRT bzw. MRI). In der Radiographie, z.B. der Computertomographie (CT), wird die Absorption von Röntgenstrahlung gemessen. So tritt im Körper eine starke Absorption in dichtem Material, wie z.B. Knochen, auf. Von Weichteilgewebe und Hohlorganen wird die Strahlung weniger stark absorbiert. Um für diese Regionen trotzdem eine höhere Absorption und damit einen besseren Kontrast zu erzielen, werden Röntgen-Kontrastmittel wie z.B. Iod-basierte Kontrastmittel verabreicht, die die Strahlung absorbieren. Negative Kontrastmittel führen hingegen zu einer Verminderung der Absorption im Vergleich zu benachbarten Strukturen und können in sogenannten Doppelkontrastaufnahmen verwendet werden. Dabei wird sowohl eine

Aufnahme ohne Kontrastmittel, als auch eine Aufnahme mit negativen Kontrastmittel, z.B. Kohlendioxid oder andere Gase, gemacht und durch die Überlagerung beider Bilder wird ein besserer Kontrast erzielt [16-18].

In dieser Arbeit werden ausschließlich Gd-basierte MRT-Kontrastmittel untersucht. Sie gehören zu den positiven Kontrastmitteln und verkürzen während der MRT die Relaxation der Protonen von umliegenden Wasser, sodass ein erhöhter Kontrast in der Nähe der Gd-MRT-Kontrastmittel auftritt [19]. Details zu den Gd-MRT-Kontrastmitteln werden im Kapitel 6.3 behandelt. Voraussetzung für MRT-Kontrastmittel ist der Paramagnetismus der jeweiligen Substanzen. Neben Gd-haltigen Kontrastmitteln finden auch Mn-haltige Kontrastmittel und superparamagnetische Eisenoxidnanopartikel (SPIO) vermehrt Anwendung [20].

6.2 Gadolinium

Das Metall Gadolinium gehört zur Gruppe der Lanthanoide, auch Seltene Erden genannt. Das Element besitzt die Ordnungszahl 64 im Periodensystem der Elemente und hat eine gemittelte Atommasse von 157,25 u. Gadolinium hat sieben natürliche Isotope. In Tabelle 1 sind diese Isotope mit ihrer Häufigkeit aufgelistet [21].

Tabelle 1: Isotope des Elementes Gadolinium und deren Häufigkeit.

Gd-Isotope	Isotopen-Häufigkeit
¹⁵² Gd	0,20 %
¹⁵⁴ Gd	2,15 %
¹⁵⁵ Gd	14,78 %
¹⁵⁶ Gd	20,59 %
¹⁵⁷ Gd	15,71 %
¹⁵⁸ Gd	24,78 %
¹⁶⁰ Gd	21,79 %

Die Elektronenkonfiguration von Gadolinium ist [Xe] 4f⁷5d¹6s². Meist kommt das Element in der Oxidationsstufe +3 vor. Der Schmelzpunkt von Gadolinium liegt bei 1312 °C und der Siedepunkt bei 3250 °C. Die erste Ionisierungsenergie beträgt 6,1 eV [22,23].

Gadolinium besitzt durch seine sieben ungepaarten 4f-Elektronen einen starken Paramagnetismus [24,25]. Dies macht Gadolinium u.a. technisch besonders interessant. So wird Gadolinium neben der Anwendung als Kontrastmittel für die MRT auch für Magnete, Supraleiter und Katalysatoren verwendet. Andere Anwendungen sind beispielsweise als Legierungsmetall. Zudem findet Gadolinium wegen der hohen Neutronenabsorptionsefähigkeit in der Nukleartechnik Verwendung [16,4]. Weltweit werden pro Jahr ca. 400 t Gadolinium abgebaut [26].

Auf Grund des ähnlichen Ionenradius von Gd^{3+} (108 pm) zum Ca^{2+} (114 pm) sind diese Elemente durch den menschlichen Organismus nicht differenzierbar, sodass Gd^{3+} als Inhibitor von Kalzium-basierten Prozessen im Körper toxisch wirken kann [27,28].

6.3 Gadolinium basierte MRT-Kontrastmittel

6.3.1 Diagnostische Anwendung

In der modernen medizinischen Diagnostik werden Gadolinium basierte MRT-Kontrastmittel routinemäßig in 25–30 % aller Magnetresonanztomographie (MRT) Anwendungen in Krankenhäusern und Kliniken bei Menschen und Tieren angewendet, um in diesem bildgebenden Verfahren den Kontrast zu verbessern [19,29-31]. Durch den verbesserten Kontrast können abnormale Strukturen besser sichtbar gemacht werden.

In Deutschland wurden 2009 rund 100 dieser Untersuchungen auf 1000 Einwohner durchgeführt, wobei die Zahl der Anwendungen mit einer Tendenz von ca. 6,6 % pro Jahr ansteigt [1]. Es gibt eine große Gruppe von Gd-MRT-Kontrastmitteln, von denen neun für die klinische Anwendung zugelassen sind. Dabei besitzen die Kontrastmittel je nach Hersteller bzw. Konzentration des Kontrastmittels unterschiedliche Name, z.B. Dotarem® ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) oder Artirem® ($0,0025 \text{ mol L}^{-1}$); dies entspricht Gd-DOTA bzw. als generischer Name Gadoterat. Eine Übersicht der verschiedenen typischen Bezeichnungen für die Gd-Kontrastmittel ist in Tabelle 2 zusammengestellt. In Abbildung 1 sind Strukturformeln für alle in dieser Arbeit relevanten Gd-Kontrastmittel aufgeführt. In dieser Arbeit wird vorwiegend die Abkürzung für die jeweiligen Gd-Komplexe verwendet, da bestimmte chemische Zusätze und Art der Gegenionen in den jeweiligen Gd-MRT-Kontrastmitteln für die Analyse nicht relevant sind. Als Gegenionen kann z.B. Natriumionen oder Meglumine vorkommen, die bei negativ-geladenen Gd-Komplexen Anwendung finden. Außerdem

beinhalten die meisten Gd-MRT-Kontrastmittel einen geringen Überschuss an metallfreien Komplexen, dieser beträgt zwischen 0,1 bis 10 % bezogen auf den Gd-Komplex.

Der Anteil an „freien“ Komplexen im Kontrastmittel soll die Transmetallierung und damit die Freisetzung des toxischen Gadoliniums unterbinden sowie die Rekomplexierung von freien Gd fördern. So sind recht hohe Konzentrationen (5–10 mol%) der „freien“ Komplexe in Gd-Kontrastmitteln mit niedriger Stabilität (Gd-DTPA-BMA, Gd-DTPA-BMEA) hinzugefügt und geringe Konzentrationen (0,1–0,6 mol%) bei Gd-Kontrastmittel hoher Stabilität (Gd-HP-DO3A, Gd-EOB-DTPA) [27,32].

Tabelle 2: Übersicht über Gadolinium-MRT-Kontrastmittel in klinischen Anwendungen [28,33,34].

Typischer Handelsname	Abkürzung	Generischer Name	Art der Struktur	Ionische Verbindung
Dotarem®	Gd-DOTA	Gadotersäure	Makrozyklisch	Ja
Prohance®	Gd-HP-DO3A	Gadoteridol	Makrozyklisch	Nein
Gadovist®	Gd-BT-DO3A	Gadobutrol	Makrozyklisch	Nein
Magnevist®	Gd-DTPA	Gadopentetatsäure	Offenkettig	Ja
Omniscan®	Gd-DTPA-BMA	Gadodiamin	Offenkettig	Nein
Optimark®	Gd-DTPA-BMEA	Gadoversetamid	Offenkettig	Nein
Multihance®	Gd-BOPTA	Gadobenatsäure	Offenkettig	Ja
Primovist®	Gd-EOB-DTPA	Gadoxetatsäure	Offenkettig	Ja
Vasovist®	MS-325	Gadofosveset	Offenkettig	Ja

Diese Tabelle erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, da es je nach Hersteller und Konzentrationen der Gd-Kontrastmittel sehr viele verschiedene Namen für die Kontrastmittel gibt.

Um die zuvor genannte toxische Wirkung des Gadoliniumions zu verhindern und die Wasserlöslichkeit zu erhöhen und damit die medizinische Anwendung zu verbessern, wird Gadolinium, als Chelatkomplex gebunden, angewendet.

Das strukturelle Grundgerüst der Gadolinium-basierten Chelatkomplexe, die medizinisch zugelassen sind, besteht aus Polyaminocarbonsäuren. In den Komplexen besitzt Gadolinium die Koordinationszahl neun. Hierbei sind acht Stellen vom Chelat belegt und eine Koordinationsstelle von Wasser, dass einem schnellen Ligandenaustausch mit anderem Wasser unterliegt. Bei negativ geladenen Kontrastmitteln wie z.B. Primovist® und Vasovist®

werden als Gegenionen Natriumionen verwendet, bei Dotarem®, Magnevist® und Multihance® hingegen der isotonische Natriumionen-Ersatz Meglumine (N-Methyl-D-Glucamin) [33,35,36].

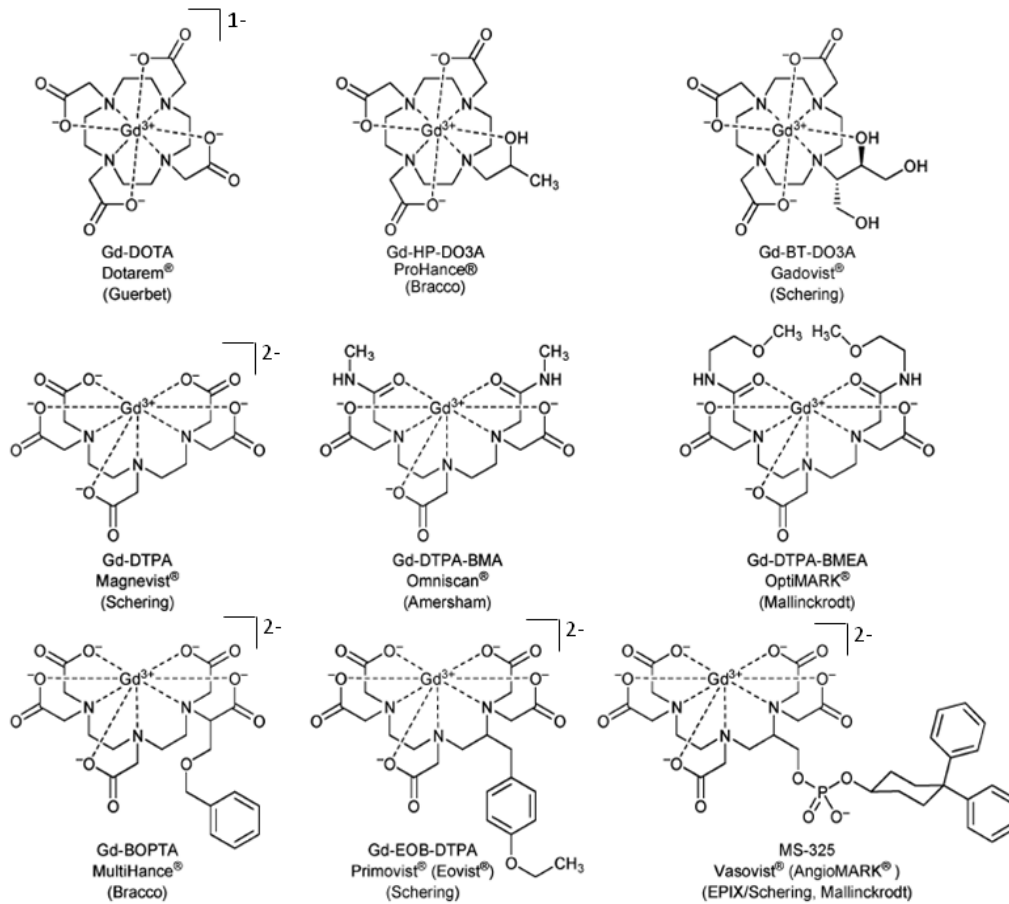


Abbildung 1: Häufig verwendete Gadolinium-MRT-Kontrastmittel in klinischen Anwendungen [33].

Die Gd-Kontrastmittel werden meist durch einmalige Injektion (Bolus), durch Tropfeninfusion aber auch durch direkte Injektion, z.B. ins Gelenk zur Gelenkuntersuchung, dem Patienten verabreicht [37].

Magnevist® (Gd-DTPA) ist das erste Gd-Kontrastmittel, das 1984 u.a. von *Weinmann et al.* als potentiell Kontrastmittel für die Magnetresonanztomographie publiziert wurde [38] und 1988 in Deutschland die Zulassung erhielt [39]. Seitdem gehören Gd-Kontrastmittel zur Routine in der klinischen Diagnostik.

Mittlerweile lief das Patent auf das Gd-Kontrastmittel Magnevist® aus, sodass es diverse weitere Herstellernamen wie z.B. Marktiv 500®, Magnegita 500®, Magnetolux 500®, MRLux 500® gibt. 2008 lag der Marktanteil der Gd-Kontrastmittel in den USA für Magnevist bei 50 %, Omniscan® 35 %, ProHance® 10 % und Optimark® 5 % [32]. Mit der Einführung des Gd-Kontrastmittels Dotarem® 2013 in den USA ist anzunehmen, dass sich die eben genannten Marktanteile erheblich verändern werden. So lag beispielsweise der Marktanteil von Dotarem® in Europa 2012 bei 47 % [40].

Gd-Kontrastmittel sind sehr hydrophil, sodass sie, wenn sie in den Blutkreislauf injiziert wurden, schnell im Körper verteilt werden. Die Gd-Kontrastmittel sind teilweise so modifiziert, dass eine Konzentrierung in bestimmten Regionen des Organismus erfolgt. Beispielsweise bindet das (ehemals zugelassene[41]) Vasovist® (MS-325) vorwiegend am Human Serum Albumin und verhindert damit eine schnelle Ausscheidung über die glomeruläre Filtration, sodass ein längerer Verbleib des Kontrastmittels im Blut erzielt wird. Dies kann für eine bessere Abbildung der Blutgefäße und des extrazellulären Raums genutzt werden. Zudem verbessert die Bindung des Kontrastmittels an Human Serum Albumin die Relaxationszeit der Wasserprotonen und kann somit zu einer Verbesserung des Bildkontrastes führen [42]. Das Kontrastmittel Multihance® (Gd-BOPTA) besitzt eine Benzylgruppe und erzielt daher auf Grund der höheren Lipophilie eine erhöhte Affinität in der Leber, sodass Multihance® als leberspezifisches Gd-Kontrastmittel zum Einsatz kommt [39,43,44].

Ein weiteres Auswahlkriterium für ein bestimmtes Gd-Kontrastmittels ist, dass je nach Land nur jeweils bestimmte Kontrastmittel für bestimmte Anwendungen zugelassen sind. Ein anderes Kriterium ist, dass für einige Risiko-Patientengruppen bestimmte Kontrastmittel nicht verwendet werden dürfen, um Gesundheitsgefährdungen zu minimieren. So besteht für bestimmte offenkettige Kontrastmittel ein höheres Risiko auf NSF (Nephrogene Systemische Fibrose) besonders aber bei Patienten mit Nierenproblemen [45]. Auch wird vereinzelt über erhöhte Übelkeit und Erbrechen nach Verwendung bestimmter Kontrastmittel berichtet [32].

Neben den für Menschen zugelassenen Gd-Kontrastmitteln, gibt es zahlreiche Weiterentwicklungen der Kontrastmittel. So gibt es Entwicklungen, bei denen das Gd in Polymere eingebunden ist, um die Leistungsfähigkeit zu steigern, dies umfasst eine Erhöhung der Selektivität für bestimmte Organe und Geweberegionen, eine ausreichend lange

Verbleibzeit am Zielort, die Verringerung der Toxizität und der Nebenwirkungen, sowie der Reduzierung der Konzentrationsdosis [46,47]. Einige Gd-Kontrastmittel sind so modifiziert, dass sie als Sonde bestimmte Regionen, Moleküle und Elemente spezifisch sichtbar machen, wie z.B. Zn, Ca oder Cu-sensitive Gd-Kontrastmittel, redoxsensitive Gd-Kontrastmittel oder auch solche, die sich zur direkten Tumordetektion eignen [48-51].

Auf Grund des Paramagnetismus, der durch die sieben ungepaarte 4f-Elektronen des Gadoliniums verursacht wird, wird Gadolinium bevorzugt für die Magnetresonanztomographie als Kontrastmittel eingesetzt [24,25]. Daraus resultiert ein großes magnetisches Moment, mit dem das Gadoliniumion die Relaxationszeit der ^1H -Protonen des Wassers in seiner Umgebung stark verkürzen kann. Somit kommt es zur Intensitätserhöhung des Signals bei T1-gewichteten Aufnahmen, was zu einem besseren Kontrast in der Bildgebung führt. Ein Kontrast im Magnetresonanztomaging wird vor allem durch die unterschiedlichen Wassergehalte in den verschiedenen Organen und Geweben erzielt, sowie durch die in unterschiedlichen Geweben abhängigen Spin-Gitter-Relaxation Zeiten. Hierbei können die Gd-Kontrastmittel diese Unterschiede durch lokale Signalverstärkung erhöhen [52,53]. Zudem führt z.B. ein schnellerer Wasseraustausch am Gadoliniumion zur Erhöhung der Relaxation, dies kann durch (kurzzeitige) Bindung der Gd-Kontrastmittel an Proteine (Human Serum Albumin) und damit verbundene Verringerung des „rotational tumbling“ erzielt werden [54].

Gd-Kontrastmittel können im gesunden Organismus die Blut-Hirn-Schranke auf Grund der hohen Hydrophilie nicht überwinden [44,55]. Tritt allerdings eine Störung dieser Schranke auf, z.B. hervorgerufen durch Tumorbildung, so können die Gd-Kontrastmittel ins Gehirn gelangen und so zur Detektion von Krebstumoren im Gehirn verwendet werden [56].

Üblicherweise werden die Gd-Kontrastmittel, wenn keine Komplikationen auftreten, schon nach wenigen Stunden fast vollständig, auf Grund der guten Nierengängigkeit, renal ausgeschieden [39]. Gd-Kontrastmittel, wie z.B. Multihance®, Vasovist® und Primovist® werden zum Teil über das Leber- und Gallensystem ausgeschieden [33,57-59].

6.3.2 Eintrag von Gd-Kontrastmittel in die Umwelt

Weltweit belief sich 2005 die Verwendung der Gadolinium-basierten Kontrastmittel auf 20 Millionen Anwendungen, mit einer Steigerung von drei bis sieben Prozent pro Jahr [29]

[60]. Im Normalfall wird für die meisten Gd-Kontrastmittel eine Dosierung von ca. 0,12 mmol pro Kilogramm Körpergewicht verwendet. Dies entspricht pro Person (65 kg) ca. 7,8 mmol des Gd-Kontrastmittels, also 1,3 g Gadolinium pro Anwendung [35,5]. *Kümmerer und Helmers* schätzten, dass im Jahr 1996 allein rund 1,2 t Gadolinium durch MRT-Anwendungen in Kliniken und Krankenhäusern ins Abwasser in Deutschland gelangten [35]. Die Gd-Kontrastmittel werden nach dem Verlassen des Organismus nicht in den Krankenhäusern und Kliniken gesammelt. In den Klärwerken findet auch keine ausreichende Aufreinigung des Wassers statt. So zeigte *Telgmann et al.* in einer Studie, dass bei dem untersuchten Klärwerk nur rund 10 % des Gadoliniums abgetrennt wird [2]. Dies bedeutet, dass rund 90 % der verwendeten Gd-Kontrastmittel in die Oberflächengewässer gelangen. Dies wirft die Frage auf, wie sich die Gd-Kontrastmittel in urbanen Oberflächengewässern verhalten. Ein Hinweis dazu lieferten die Gadolinium Elementanalysen von *Bau und Dulski* [3] sowie *Kulaksız et al.* [26] und *Tepe et al.* [61]. Sie zeigten im Trinkwasser aus dem Westteil Berlins auf, dass die anthropogene Gd-Konzentration im letzten Jahrzehnt stark angestiegen ist. Es wurde vermutet, dass dies durch die Gadolinium-basierten Kontrastmittel hervorgerufen wird. Auf Grund ihrer hohen Stabilität wird vermutet, dass sie in der Umwelt langlebig sind. So ist die Überlegung, dass die Gd-Kontrastmittel über die Uferfiltration und über die Sickerbecken vom Oberflächenwasser ins Grundwasser gelangen können, und von dort ins Trinkwasser [62-64]. Allerdings ist noch immer nicht geklärt, ob die erhöhte Gd-Konzentration von Gd-MRT-Kontrastmitteln, deren Metaboliten oder von anderen technischen Gd-Quellen herrührt, da keine Speziesanalytik durchgeführt wurde. Um eine Vorstellung von der Stabilität der Gd-Kontrastmittel zu gewinnen, kann die thermodynamische Stabilitätskonstante K_{therm} herangezogen werden. Dieser Wert gibt das Verhältnis von Gd-Komplexen und deren dissoziierten Edukte im thermodynamischen Gleichgewicht an (*Formel 1, Tabelle 2*). Die Stabilitätskonstante wird meist als natürlicher Logarithmus beschrieben, da das Gleichgewicht extrem stark auf der Seite des undissoziierten Gd-Komplexes liegt (*Tabelle 3*).

Formel 1: Allgemeine Formulierung für die thermodynamische Gleichgewichtskonstante für Gd-Kontrastmittel; L = Chelatbildner.

$$K_{therm} = \frac{[GdL]}{[Gd][L]}$$

Allerdings ist zu beachten, dass diese Stabilitätskonstanten bei der Betrachtung der Gd-Kontrastmittel in natürlicher Umgebung nur zur Abschätzung dienen können. So werden Konkurrenzgleichgewichte, wie z.B. Transmetallierungsprozesse, die auch bis hin zum Abbau der Komplexe führen, nicht beachtet. Neben der Transmetallierung sind auch Umwelteinflüsse wie z.B. Oxidation oder UV-Strahlung zu nennen, die eine Freisetzung des toxischen Gadoliniums bewirken könnten. Die Transmetallierung und der Abbau von Gd-MRT-Kontrastmitteln sind in Kapitel 6.5 beschrieben.

Die Stabilitätskonstanten können angepasst werden, um natürliche Bedingungen besser darzustellen. So wurde die selektive Stabilitätskonstante K_{sel} (auch als K' oder K_{cond} bezeichnet) für einen pH-Wert von 7,4 eingeführt, wobei die Protonen als Konkurrenz-Ionen zum Metall-Ion im Komplex zu betrachten sind (Formel 2) [27]. Hierbei zeigt sich, dass die selektive Stabilitätskonstanten zwei bis sechs Größenordnungen geringer sind, als die thermodynamisch berechneten (Tabelle 3).

Formel 2: Selektive Stabilitätskonstanten für Gd-Kontrastmittel.

$$K_{sel} = \frac{K_{therm} \times [L][H^+]^n}{[H_nL]}$$

Hierbei ist L = Chelat und HL das protonierte Chelat.

Tabelle 3: Stabilitätskonstanten von Gd-Kontrastmitteln.

	Gd-DOTA	Gd-HP-DO3A	Gd-BT-DO3A	Gd-DTPA	Gd-DTPA-BMA	Gd-DTPA-BMEA	Gd-BOPTA	Gd-EOB-DTPA	MS-325
log K_{therm}	25,3	23,8	20,8	22,2	16,8	16,8	22,6	23,5	23,2
log K_{sel}	19,3	17,1	14,7	17,7	14,9	15,0	18,4	18,7	18,9

Stabilitätskonstanten entnommen aus: [27]

6.4 Toxizität von Gadolinium und Gadolinium basierten Kontrastmitteln

Gadolinium-(III)-Ionen sind hoch toxisch. So beträgt die Akut-Toxizität (intravenös, LD_{50}) von $GdCl_3$ 0,3–0,5 mmol pro Kilogramm Körpergewicht [29,38]. Dabei steht LD_{50} , für die mittlere „Letale Dosis“, also die Konzentration, bei der eine 50 %ige Letalität der Versuchorganismen vorliegt. Die toxische Wirkung von Gadolinium beruht vor allem auf der

Ähnlichkeit der Ionenradien von Gadolinium- und Kalziumionen. So beträgt der Ionenradius von Gd^{3+} ca. 108 pm, der von Ca^{2+} ca. 114 pm [27]. Gadoliniumionen wirken daher im Körper als Kompetitor von Kalziumionen und inhibieren zelluläre Prozesse im Organismus [25]. Betroffen davon sind z.B. Kalzium-aktivierbare Enzyme, physiologische Prozesse wie Nervenimpulsübertragung, Blutgerinnung sowie die Muskulatur, wie z.B. das Herz [26,65-69].

Um die Toxizität des Gadoliniums zu reduzieren, wird es als Chelatkomplex gebunden und angewendet. Zudem wird dadurch die Wasserlöslichkeit des Gadoliniums erhöht. Durch die Chelatisierung des Gd^{3+} z.B. mit DTPA wird die Toxizität (LD_{50} , i.v.) auf 10 mmol kg^{-1} Körpergewicht (KG) erhöht, also um das 30 fache [38]. Allerdings variiert die Toxizität je nach Anwendung, d.h. Flussgeschwindigkeit der Injektion oder Injektionsart. So beträgt der LD_{50} -Wert bei intravenöser Injektion 10 mmol kg^{-1} KG, bei intracisternaler Injektion 650 mmol kg^{-1} KG für Gd-DTPA [38]. Bei Gd-BOPTA beträgt der LD_{50} -Wert bei intravenöser Injektion $6,6 \text{ mmol kg}^{-1}$ KG. Wird der Injektionsfluss verringert, so steigt der LD_{50} -Wert auf $7,9 \text{ mmol kg}^{-1}$ KG [70,71]. Bei einer intracerebralen Injektion sinkt der LD_{50} -Wert für Gd-BOPTA auf $1,0 \text{ mmol kg}^{-1}$ KG [72]. Für die medizinische Anwendung werden meist $0,12 \text{ mmol kg}^{-1}$ KG Gd-Kontrastmittel eingesetzt, sodass eine akute Toxizität ausgeschlossen wird [35,5,73,74].

Dass die Stabilität der Gd-Kontrastmittel möglicherweise nicht in allen Fällen ausreichend ist, zeigt der häufig diskutierte Zusammenhang zwischen Gadolinium basierten MRT-Kontrastmitteln und der Nephrogene Systemische Fibrose (NSF). NSF ist eine Erkrankung, mit Symptomen, wie der irreversiblen Verhärtung der Haut und Organe, die tödlich enden kann [75,76]. Sie wurde von *Cowper et al.* erstmals 1997 beobachtet [77]. Im Jahr 2007 waren bereits mehr als 400 Fälle von NSF bekannt, die im direkten Zusammenhang mit den Gd-Kontrastmitteln gebracht wurden [78]. Seitdem wird in den Beipackzetteln auf die Gefahr von NSF hingewiesen [74,79-81]. In den Gewebeproben der Patienten mit NSF konnte eine erhöhte Konzentration von Gadolinium gefunden werden [82-84], dass auf einen direkten Zusammenhang von Gd-Kontrastmitteln und NSF hinweist. In vielen Fällen trat NSF innerhalb von 6 Monaten nach der Gd-Kontrastmittel-Anwendung auf, allerdings deuten einige Berichte darauf hin, dass NSF auch erst einige Jahre nach der Anwendung von Gd-Kontrastmitteln auftreten kann [69]. Auch sind Fälle von NSF bekannt, bei denen die Patienten einer hohen Dosis der Gd-Kontrastmittel ausgesetzt waren bzw. bei denen

Gd-Kontrastmittel in kurzem zeitlichen Abstand mehrere Male zum Einsatz kamen [69,75,85-88]. Die häufigsten Fälle von NSF sind im Zusammenhang mit dem Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA-BMA bekannt. 90 % der dokumentierten Fälle sind auf dieses Gd-Kontrastmittel zurückzuführen, 10 % entfallen auf die Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA und Gd-DTPA-BMEA [69,89-91]. Gd-DTPA-BMA und Gd-DTPA-BMEA gehören zu den linearen Gd-Kontrastmitteln mit den niedrigsten Stabilitätskonstanten (vgl. Tabelle 3). Hingegen wurden keine eindeutigen Fälle von NSF bei der Anwendung mit cyclischen Gd-Kontrastmitteln dokumentiert. Einen Zusammenhang zwischen der Stabilität und der Toxizität des jeweiligen Gd-Kontrastmittels legt beispielsweise die Arbeit von *Cacheris et al.* nah [92]. Je niedriger die Stabilität ($\log K_{\text{sel}}$) der Gd-Kontrastmittel, desto höhere Toxizität wurde beobachtet. Um zu verhindern, dass Gd^{3+} im Körper freigesetzt wird, werden teilweise dem Gd-Kontrastmittel „freie“ Chelatbildner (bzw. Na oder Ca-Chelate, die eine sehr geringe Stabilität aufweisen und daher in dieser Arbeit als „frei“ bezeichnet werden) beigefügt. Dies kann die Toxizität der Gd-Kontrastmittel verringern. Denkbare Mechanismen sind hier eine Rekompexierung des freien Gd^{3+} mit dem freien Chelatbildner, sowie die Komplexbildung von freien Metallionen, die eine Transmetallierung der Gd-Kontrastmittel fördern würden. So kann beispielsweise die akute letale Toxizität (LD_{50} , i.v.) des Kontrastmittels Gd-DTPA-BMA fast verdoppelt werden durch die Zugabe von 5 mol% des freien Chelates ($\text{Na}[\text{CaDTPA-BMA}]$) (von $14,8 \text{ mmol kg}^{-1}$ Körpergewicht (KG) auf $38,3 \text{ mmol kg}^{-1}$ KG) [92]. Als Nebenwirkung ist allerdings zu beachten, dass die freien Chelate ebenfalls eine hohe Toxizität aufweisen können, sodass die Konzentration der Zugabe von freien Chelaten beschränkt wird.

Ein wichtiger Beitrag zur Freisetzung von Gd^{3+} im Körper könnte die Transmetallierung der Gd-Kontrastmittel liefern. Da bei Niereninsuffizienz die Ausscheidung des Gd-Kontrastmittels verzögert ist, kommt es zu einer längeren Verweilzeit im Körper, wodurch mehr Gd^{3+} aus den Gd-Kontrastmittel durch Transmetallierung und Abbau der Gadolinium-Chelate freigesetzt wird [93]. So beträgt die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) der Ausscheidung des Gd-Kontrastmittels Gd-DTPA-BMA normalerweise $t_{1/2} = 78 \text{ min}$, bei eingeschränkter Nierenfunktion (Glomeruläre Filtrationsrate = $18\text{--}43 \text{ mL min}^{-1}$) verlängert sich die Zeit auf $t_{1/2} = 348 \text{ min}$ [94].

Cabella et al. zeigte, dass die Gadoliniumionen in Gd-Kontrastmittel bei dem Transport durch Zellmembranen aus dem Chelat gelöst werden, sodass unkomplexiertes, toxisches

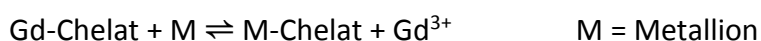
Gadolinium in das Zellinnere vordringen kann [95]. Gadolinium konnte in hohen Konzentrationen nach der Verwendung von Gd-Kontrastmitteln *in vivo* im Knochengewebe nachgewiesen werden; der Nachweis war sogar noch 8 Jahre nach der Exposition möglich [25]. Es wird angenommen, dass das Gadolinium aus dem Knochen mobilisiert werden kann, wodurch erklärt werden könnte, dass NSF bei Patienten teilweise verzögert auftritt und zudem mit der Zeit der Gadoliniumgehalt in der Haut zunimmt [84]. Transmetallierungs- und Abbauprozesse von Gd-Kontrastmitteln und die Freisetzung von Gadoliniumionen werden ausführlich im nächsten Kapitel (6.5) diskutiert.

6.5 Transmetallierung und Abbau von Gd-Kontrastmitteln

Gadolinium-haltige Kontrastmittel gelangen nach der Anwendung ins Abwasser und von dort über die Klärwerke in die Oberflächengewässer, damit ist ein möglicher Abbau von Gd-Kontrastmittel von Interesse. Bei den Abbauprozessen steht vor allem die Transmetallierung der Gd-Chelate im Mittelpunkt. Dies ist nicht nur relevant für die Umwelt, sondern auch in der medizinische Anwendung der Gd-Kontrastmittel, da hier vergleichbare Prozesse ablaufen können.

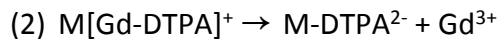
Bei der Transmetallierung kann das Gadoliniumion durch ein anderes Metallion ausgetauscht werden und dadurch das toxisch wirkende Gadoliniumion freigesetzt werden (*Formel 3*). Bei der Transmetallierung von z.B. Gd-DTPA wird zunächst in einer schnellen Reaktion ein polynuklearer Chelatkomplex ($M[Gd-DTPA]$) gebildet, anschließend erfolgt die Bildung des mononuklearen Chelates (*Formel 4*), wobei das Gadoliniumion freigesetzt wird [36,96].

Formel 3: Transmetallierung von Gd-Kontrastmitteln.



Formel 4: Transmetallierung von Gd-Kontrastmitteln (am Beispiel von Gd-DTPA) durch polynukleare Chelatbildung [36].





langsame Reaktion

M = Metallion

Da die Gd-Chelate sehr stabil sind, muss für die Transmetallierung das Gd-Chelat vorher destabilisiert werden. So bietet beispielsweise das Blut des Patienten, dem die Gd-Kontrastmittel verabreicht werden, mit seiner hohen Phosphatkonzentration im Blutplasma ($0,38 \text{ mmol L}^{-1}$) [97] eine Möglichkeit zur Destabilisierung und Verdrängung des Gadoliniums aus den Komplexen und zwar wegen der hohen Affinität des Lanthanoids zum Phosphat ($\log K_{\text{therm.}} = 12,2$) [98]. Äquivalent dazu enthält Abwasser meist eine hohe Phosphatkonzentration, sodass auch hier eine Destabilisierung der im Abwasser enthaltenen Gd-Kontrastmittel möglich ist. Um die Phosphatkonzentration im Klärwasser zu reduzieren, werden im Belebungsbecken des Klärwerks oder mit Fällungsreagenzien die Phosphatverbindungen abgetrennt. Typischerweise kommen als Fällungsreagenzien Eisen- oder Aluminiumverbindungen zum Einsatz. Hier bietet sich eine weitere Möglichkeit der Transmetallierung, weil Eisenionen eine höhere Stabilitätskonstante in den Komplexen besitzt als Gadoliniumionen (Tabelle 4) und zudem Phosphationen zur Destabilisierung der Gd-Kontrastmittel vorhanden sind. Neubert untersuchte den Abbau in einer Modellklärwerkanlage, stellte aber keinen biologischen Abbau der Kontrastmittel fest. Allerdings wurde eine Destabilisierung der Gd-Komplexe bei dem Einsatz des Flockungsmittels FeCl_3 beobachtet [99].

Tabelle 4: Stabilitätskonstanten von verschiedenen Metall-DTPA Spezies [19,43,93].

Komplex (L)	Log K (Ca-L)	Log K (Cu-L)	Log K (Zn-L)	Log K (Fe-L)	Log K (Gd-L)
DTPA	10,75	21,38	18,29	28,6	22,46
DTPA-BMA	7,17	13,03	12,04	*	16,85
DOTA	17,23	22,63	21,05	*	25,30

K: thermodynamische Stabilitätskonstante. * Wert nicht verfügbar.

Tweedle et al. zeigte, dass bei offenkettigen Gd-Kontrastmitteln wie Gd-DTPA eine erhöhte Transmetallierung mit Kupfer- und Zinkionen in Anwesenheit von Phosphationen (PO_4^{2-}) auftreten kann. Hierbei wurden in zehn Minuten über 20 % des Gadoliniums aus dem Kontrastmittel Gd-DTPA entfernt und als Fällung von GdPO_4 nachgewiesen. Hingegen lag

für die makrozyklischen Gd-Kontrastmittel die Transmetallierung im gleichen Zeitraum unter 1 % [100]. Das offenkettige Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA-BMA zeigt eine noch geringere Stabilität als Gd-DTPA bei Transmetallierungsexperimenten mit Zn-Citrat [29,101]. Weitere Transmetallierungsexperimente mit Gd-DTPA führte u.a. *Künnemeyer et al.* durch. Hierbei wurde als Matrix Blutplasma verwendet, in der die Transmetallierung von Gd-DTPA mit Eisenionen in Form von Fe-Citrat beobachtet wurde. Hierbei konnte nach zwei Tagen eine Transmetallierung zum Fe-DTPA mit einem Anteil von 74,5 % gezeigt werden. Allerdings konnte im Blutplasma ohne den Metallzusatz keine Transmetallierung für die untersuchten Metallionen Eisen, Zink und Kupfer festgestellt werden [93]. Dies könnte an der schlechten Verfügbarkeit freier Metallionen im Blut liegen, da die meisten Eisenionen proteingebunden sind (Hämoglobin, Ferritin) [102]. Werden hingegen Medikamente oder Nahrungsergänzungen mit hohem Metallgehalt verabreicht, wie z.B. intravenöse Injektion von Eisen (z.B. Eisen-III-Carboxymaltose) bei Niereninsuffizienz [103], dann ist durch den längeren Verbleib der Gd-Kontrastmittel im Körper und der guten Verfügbarkeit von Eisenionen eine Transmetallierung gut vorstellbar.

Wie stabil die Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA und Gd-DOTA im humanen Serum sind, untersuchte auch *Magerstadt et al.* Dabei wurde eine Reduzierung der Gd-DTPA Konzentration von 10–20 % über 6 Tage (150 h) beobachtet. Hingegen blieb die Konzentration von Gd-DOTA im Serum relativ konstant [104]. Auch *Frenzel et al.* untersuchten die Stabilität von Gd-Kontrastmitteln im Serum unter physiologischen Bedingungen (37 °C, pH = 7,4) [105]. Dabei wurde die prozentuale Freisetzung von Gd³⁺-Ionen nach 15 Tagen bestimmt. Hierbei zeigt sich vor allem bei den Gd-Kontrastmitteln, die auch schon in Fällen von NSF und auf Grund der geringen Stabilität aufgefallen sind, dass bei Optimark (Gd-DTPA-BMEA) und bei Omniscan (Gd-DTPA-BMA) nach 15 Tagen 21 % bzw. 20 % Gd³⁺-Ionen (bezogen auf die Gesamt-Gd-Konzentration) aus den Gd-Chelaten freigesetzt wurden. Weitere offenkettige/lineare Gd-Kontrastmittel zeigten eine Freisetzung von 1–2 %. Dies ist im Vergleich zu den Ergebnissen von *Magerstadt et al.* deutlich geringer [104]. Im Gegensatz zu den offenkettigen Gd-Kontrastmitteln konnte bei allen cyclischen Kontrastmitteln kein freigesetztes Gadolinium nachgewiesen werden. Bei Zugabe von Phosphat (10 mmol L⁻¹) zum Serum erhöhte sich die Freisetzung von Gadolinium, für alle offenkettigen Gd-Kontrastmittel, um mehr als 75 % im Vergleich zum

ursprünglichem Serum. Bei den cyclischen Kontrastmitteln konnte trotz der Phosphatzugabe keine Freisetzung des Gadoliniums beobachtet werden [105].

Baranyai et al. untersuchte den Einfluss von endogenen Liganden (z.B. Citrat, Phosphat, Carbonat, Histidinat) auf Gd-Kontrastmittel im pH Bereich von 6–8 [106]. Es zeigte sich, dass die Ionen HCO_3^- , CO_3^{2-} und H_2PO_4^- sowie Citrationen die Dissoziation von Gd-Kontrastmitteln beschleunigen. Hierbei war die Dissoziation für das Kontrastmittel Gd-DTPA-BMA gegenüber Gd-DTPA um 2 Größenordnungen erhöht. Die beschleunigte Dissoziation der offenkettigen Gd-Kontrastmittel mittels endogener Liganden spricht für eine potentielle Gefahr der Gd-Kontrastmittel im Körper und zwar auf Grund der hohen Konzentration von Carbonationen im Blutplasma von 25 mmol L^{-1} [97]. Die Transmetallierung cyclischer Gd-Kontrastmittel wird hingegen von den endogenen Liganden nicht beeinflusst, wohl aber vom pH-Wert. So ist die Dekomplexierung der Gd-Kontrastmittel proportional zur H^+ -Konzentration. Bei $\text{pH} = 1$ (25°C) sind die Gd-Kontrastmittel nicht mehr thermodynamisch stabil, sodass die kinetische Stabilität/Inertheit analysiert werden kann. Die offenkettigen Gd-Kontrastmittel besitzen hierbei eine Halbwertszeit ($t_{1/2}$) von wenigen Sekunden (Tabelle 5). Hingegen beträgt die $t_{1/2}$ für Gd-DOTA 338 Stunden bei 25°C , bzw. 26,4 Stunden bei 37°C [27,107].

Tabelle 5: Halbwertszeit ($t_{1/2}$) der Dissoziation von Gd-Kontrastmitteln bei $\text{pH} = 1$; 25°C (nach [27,107]).

Gd-Kontrastmittel	Dissoziations-Halbwertszeit ($t_{1/2}$); $\text{pH} = 1,0$; 25°C
offenkettige Gd-Kontrastmittel	< 5 s
Gd-HP-DO3A	3,9 h
Gd-BT-DO3A	43 h
Gd-DOTA	338 h

Neben der kinetischen Stabilität der Gd-Kontrastmittel ist die Stabilität bei niedrigen pH-Werten auch für die Behandlung von Analyse-Proben, die Gd-Kontrastmittel beinhalten, relevant. So sollte z.B. auf eine Ansäuerung von Wasserproben verzichtet werden. Ein anderer Aspekt ist die potentielle orale Aufnahme von Gd-Kontrastmitteln, wenn sie in die Nahrungskette gelangen, da die Gd-Kontrastmittel im nüchternen Magen einem sehr niedrigen pH-Wert ($\text{pH} = 1\text{--}2$) ausgesetzt sind.

Für die Betrachtung der Stabilität von Gd-Kontrastmitteln in der Umwelt ist die Metabolisierung ein wichtiger Bestandteil. So können schon kleine Veränderungen der chemischen Struktur die Stabilität stark beeinflussen. Beispielsweise kann durch das Einführen einer zusätzlichen CH₂-Gruppe in den DOTA-Liganden (R-N-(CH₂)_n-N-R; n = 2 → 3) die Stabilität von log K_{therm} = 25 auf 19 für Gd-DOTA gesenkt werden [28,108]. Werden die Carboxylgruppen (COO⁻) hingegen z.B. durch Phosphonatgruppen (PO₃²⁻) ausgetauscht, so steigt die Stabilität auf log K_{therm} = 29 [19]. Allerdings ist nicht viel bekannt über die Metabolisierung bzw. deren Stabilitäten in der Umwelt. Tritt also eine Metabolisierung im Organismus bzw. in der Umwelt auf, so sollte dies auch bei der Stabilitätsbetrachtung beachtet werden.

Es stellt sich nun die Frage, welche Gd-Spezies potentiell im Wasser zu erwarten sind. *Tsuruta et al.* zeigte durch Modellexperimente zur Löslichkeit von freien Lanthanoiden, dass diese im Wasser unter Laborbedingungen bei einem pH-Wert > 6,5 als Hydroxid ausfallen [109]. Dies ist relevant, wenn Gadoliniumionen durch Transmetallierung oder Abbau der Gd-Komplexe in Ab- und Gewässern freigesetzt werden. Die dominanten, unchelatisierten Gd-Spezies sind vor allem Carbonate. Phosphate spielen in Oberflächengewässern nur eine untergeordnete Rolle, da die Konzentration von freien Phosphationen im Oberflächenwasser relativ gering ist [4,110]. Die Gleichgewichtskonstanten für typische Gd-Spezies im Wasser sind in *Tabelle 6* aufgelistet.

Tabelle 6: Gleichgewichtskonstanten von typischen Gd-Verbindungen im Wasser [98].

Gd-Spezies	Gleichgewichtskonstante (log K)
Gd(SO ₄) ₂ ⁻	5,20
GdOH ²⁺	8,00
GdHCO ₃ ²⁺	2,57
GdCO ₃ ⁺	7,82
Gd(CO ₃) ₂ ⁻	13,33
GdH ₂ PO ₄ ²⁺	2,74
GdHPO ₄ ⁺	5,91
Gd(HPO ₄) ₂ ⁻	9,97
GdPO ₄	12,19

Eine andere wasserlösliche Gd-Spezies könnte das von Huminsäure komplexierte Gadolinium sein. *Kautenburger et al.* konnte dies mit Hilfe von Iod markierter Huminsäure über eine CE-ICP-MS Analyse zeigen [111,112]. Zudem zeigten *Wan und Liu*, dass Huminsäuren das Adsorptionsverhalten von Lanthanoiden auf Böden verringern können und zwar auf Grund der hohen Komplexierungskapazität der Huminsäuren und der Affinität zu Mineraloberflächen [113]. Auch können andere Komplexierungsmittel, die in urbanen Oberflächengewässern vorkommen, wie z.B. EDTA, eine Resolvatisierung von Gadolinium aus dem Boden bewirken [114]. Dies könnte zur Bioverfügbarkeit von Gadolinium im Oberflächenwasser beitragen. Da EDTA und andere Komplexbildner in großen Mengen in der Industrie verwendet werden (Lebensmittelindustrie, Papierherstellung, Waschmittel), sollte in Zukunft der Zusammenhang der Komplexbildner auf Gd-Kontrastmittel bzw. deren Abbau untersucht werden.

Neben der Transmetallierung ist auch ein Abbau durch Umwelteinflüsse wie z.B. UV-Strahlung und Oxidation denkbar und könnte eine Freisetzung des toxisch-wirkenden Gadoliniums zur Folge haben. Hierfür ist es sinnvoll bekannte Abbaumechanismen von Komplexbildner anzuschauen, die neben den Gd-Kontrastmitteln ebenfalls in die Umwelt gelangen, wie z.B. NTA, EDTA und DTPA. Diese Komplexbildner werden bereits im $\mu\text{g L}^{-1}$ bis mg L^{-1} Bereich in die Umwelt geleitet [115]. Die Komplexbildner sind den Gd-Kontrastmitteln strukturell sehr ähnlich und bestehen jeweils aus Polyaminocarbonsäuren. Vor allem der Abbau von DTPA ist von Interesse, da die meisten Gd-Kontrastmittel aus DTPA Derivaten bestehen (Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA, Gd-DTPA-BMEA, Gd-BOPTA, Gd-EOB-DTPA, MS-325).

Im Gegensatz zu den Gd-Kontrastmitteln ist der Abbau der Komplexbildner NTA, EDTA, DTPA (und weitere) in der Umwelt schon sehr weit erforscht, sodass Rückschlüsse auf die Stabilität der Gd-Kontrastmittel möglich sind. Viele Komplexbildner werden in großen Mengen (Absatz von 9000 t Aminopolycarbonat-Komplexbildner in Deutschland im Jahr 2000 [115]) in der Industrie, Gewerbe oder im Haushalt verwendet, um unerwünschte Störungen durch Metallionen zu unterbinden, wie z.B. bei der Bleichung von Papier, der Lebensmittelindustrie oder in Waschmitteln zur Wasserenthärtung [116,117]. Auf Grund des hohen Eintrags der Komplexbildner wurden bereits Studien durchgeführt, um die potentiellen Gefahren, aber auch mögliche Abbauprozesse zu untersuchen.

Einige Studien zeigten, dass ein DTPA-Abbau von 50–70 % im Belebtschlammbecken von Klärwerken erfolgt [118,119], hingegen konnte *Hinck et al.* keinen Abbau von DTPA feststellen [120]. Ob bzw. wie schnell Gd-DTPA und weitere Gd-Kontrastmittel abgebaut werden, ist noch unbekannt und bedarf weiterer Untersuchungen.

Dass ein mikrobiologischer Abbau von DTPA im Sediment stattfindet, zeigen gleich mehrere Quellen [121-123]. Dabei bilden sich u.a. als Abbauprodukte EDTA und NTA, dessen Abbau gut bekannt ist [124]. EDTA wird entweder photolytisch als Fe-EDTA N-dealkyliert und anschließend weiter biologisch abgebaut oder gleich mikrobiologisch zu ED3A und dann zu EDDA abgebaut. Eine andere Variante ist der Abbau über Sedimentierung mittels Adsorption von EDTA an z.B. Eisenoxid- oder Aluminium(hydr)oxidpartikeln. Im Sediment kann auch eine Oxidation (z.B. mit Mn(III)/Mn(IV)) stattfinden und somit den Abbau unterstützen/bewirken [124].

Je nach Lichteinwirkung beträgt die Halbwertszeit für den Abbau von Fe-EDTA zwischen 11 min und 100 h [124-127]. *Kari et al.* zeigt, dass ein direkter photolytischer Abbau von EDTA vorwiegend über Fe-EDTA stattfindet, dies stellt aber kein Hindernis dar, weil EDTA durch den Klärwerkeinfluss vorwiegend als Fe-EDTA (ca. 30–50 % [128,129]) vorliegt und so ins Oberflächenwasser gelangt. Unter Sommerbedingungen konnte ein vollständiger Abbau der Fe-EDTA im Modellexperiment gezeigt werden [129]. Hierbei adsorbiert der Eisenkomplex das Licht und es kommt zur Abspaltung von $\text{CH}_2\text{-COO}^-$ Gruppen (N-Dealkylierung) [125]. *Sevenson et al.* untersuchte zudem den photolytischen Abbau von Fe-DTPA. Hierbei beträgt die Halbwertszeit ca. $t_{1/2} = 8$ min [125]. *Kari et al.* nimmt an, dass durch Licht Eisen-(III) zu Eisen-(II) umgewandelt wird und dabei ein Elektronentransfer im DTPA Komplex stattfindet, der den Abbau von DTPA ermöglicht (vgl. Formel 5) [129].

Formel 5: Photolytischer Abbau von Fe-DTPA (nach [129]).



Von *Telgmann et al.* wurde die elektrochemische Oxidation der Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A untersucht [130]. Hierbei konnte mit ESI-MS gezeigt werden, dass für alle Gd-Kontrastmittel eine N-Dealkylierung, bzw. für Gd-BOPTA auch eine O-Dealkylierung unter elektrochemischer Oxidation auftritt.

Diese Oxidation könnte in vivo durch Enzyme wie Cytochrom P450 (CYP450) denkbar sein. Allerdings konnte *Telgmann et al.* keine Metaboliten von Gd-DTPA nach einer Mikrosom-Inkubation (*enthaltend CYP450*) nachweisen [130].

Um aufzuklären, wie sich Gd-DTPA während der Uferfiltration, also dem Übergang von Oberflächenwasser zum Grundwasser, verhält, wurde von *Holzbecher et al.* ein Modellexperiment durchgeführt [131]. Hierfür wurde ein 30 Meter langer Nachbau der natürlichen Uferfiltration unter Laborbedingungen realisiert. Verwendet wurde Oberflächenwasser aus dem Tegler See (Berlin). Die Halbwertszeit des hinzugegebenen Gd-DTPA (ca. $50 \mu\text{g L}^{-1}$) betrug mehr als 100 Tage. Da die durchschnittliche Flussrate durch das Sediment von 1 Meter pro Tag beträgt, sollte auch Gd-DTPA im Trinkwasser zu finden sein. Allerdings spiegelt eine Konzentration von ca. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Gd-DTPA nicht die durchschnittlichen Konzentrationen (ng L^{-1} Bereich) im Oberflächenwasser wieder.

6.6 Gadolinium-Anomalie

Als Gadolinium-Anomalie bezeichnet man eine erhöhte Konzentration an Gadolinium im Vergleich zur natürlichen Konzentration. Die natürliche/geologische Konzentration von Gadolinium im Oberflächenwasser liegt meist unter 4 ng L^{-1} . Da diese Konzentration je nach Ort sehr unterschiedlich sein kann, wird zur Überprüfung der Gd-Anomalie die Konzentrationen von Gadolinium und allen anderen Seltenen Erdmetallen analysiert und im Verhältnis mit der natürlichen Verteilung dieser Elemente gesetzt und somit normalisiert. Am besten erforscht und geeignet ist die Verteilung in den „Post Archean Australian Shales“ (PAAS), also Schiefer aus dem Post-Archaikum Erdzeitalter [132-134]. Die auf PAAS normalisierten Konzentrationen der Seltenen Erden lassen sich nach *Formel 6* berechnen. Die PAAS-Gehalte sind in *Tabelle 7* gezeigt.

Formel 6: PAAS-Normalisierung.

$$\text{normalisierter Wert} = \frac{\text{Gehalt in der Probe}}{\text{Gehalt in PAAS}}$$

Tabelle 7: Seltene Erden Gehalt in PAAS [133].

Seltene Erden	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Gehalt [ppm]	44,56	88,25	10,15	37,32	6,88	1,22	6,04	0,89	5,33	1,05	3,08	0,45	3,01	0,44

Die normalisierten Konzentrationen werden dann (meist logarithmisch) gegen die jeweiligen Elemente (bzw. deren Ordnungszahl) dargestellt. Liegt keine signifikante Seltene Erden Anomalie vor, so sind alle normalisierten Konzentrationen im gleichen Bereich, grafisch ist ein linearer Zusammenhang zu erkennen. In Abbildung 2 ist eine Gadolinium-Anomalie in Oberflächenwasser dargestellt. Alle Seltenen Erden, außer Gadolinium, haben einen linearen Zusammenhang, so dass von einer natürlichen Konzentration dieser Elemente ausgegangen wird. Gadolinium ist hingegen signifikant erhöht, und zeigt damit eine Gadolinium-Anomalie, die auf einen anthropogenen Eintrag von Gadolinium hindeutet.

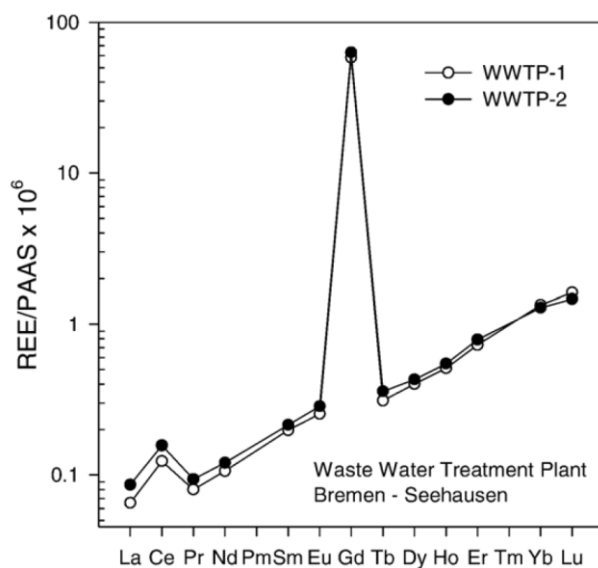


Abbildung 2: Gadolinium-Anomalie im Klärwerkwasser [6].

Da es nicht sehr viele bekannte Quellen von anthropogenem Gadolinium gibt, wird in vielen Publikationen aus einer Gadoliniumanomalie direkt geschlussfolgert, dass es sich hierbei um Gadolinium-basierte Kontrastmittel handelt, obwohl dies explizit nicht verifiziert wurde. So zeigte *Bau und Dulski* 1996 eine positive Gadoliniumanomalie in urbanem Oberflächenwasser [3]. Durch weitere Untersuchungen konnte diese Gadoliniumanomalie ebenfalls in diversen weiteren Oberflächengewässern mit urbaner Umgebung nachgewiesen [3-15] werden.

Kulaksiz und Bau untersuchten Oberflächenwasser, das ins Meer fließt [6]. Hierbei binden „natürliche“ Seltene Erden an Kolloiden, aggregieren und lagern sich ab. Somit werden sie der wässrigen Phase entzogen. Bei anthropogenem Gadolinium konnte dies allerdings nicht beobachtet werden. Dies lässt vermuten, dass es sich bei dem anthropogen eingetragenen Gadolinium, um andere Speziesformen handelt, als bei dem natürlichen Gadolinium. Als mögliche Gd-Spezies wurden Gd-Kontrastmittel in Betracht gezogen.

Neben der Gd-Anomalie in urbanen Flüssen und Seen wurde auch Trinkwasser untersucht. Hierbei wurden ebenfalls Gd-Anomalien festgestellt [3,26,135-137]. Daher wurde angenommen, dass Gadolinium-Kontrastmittel aus dem Oberflächenwasser ins Grundwasser gelangen können. Diese Vermutung wurde durch Uferfiltrationsexperimente verstärkt. So zeigte *Holzbecher et al.* dass die Abbau-Halbwertszeit unter Laborbedingungen von Gd-DTPA über 100 Tagen im Sediment beträgt [131]. Da die Uferfiltration über mehrere Jahre bis Jahrzehnte betragen kann [138], ist noch nicht absehbar, ob Gd-Kontrastmittel ins Grundwasser gelangen können. Lediglich Gd-Anomalien wurden im Grundwasser nachgewiesen. Ein direkter Nachweis fehlt bis heute. In der Literatur wurde bis jetzt noch keine Gd-Speziesanalytik des Grund- bzw. Trinkwassers erwähnt. Dies ist aber notwendig, um die Gd-Anomalie tatsächlich den Gd-Kontrastmitteln bzw. Metaboliten/Abbauprodukte zuzuordnen und so ein besseres Verständnis über den Verbleib von Gd-Kontrastmitteln in der Umwelt zu erlangen, was ein wesentliches Ziel dieser Arbeit darstellt.

6.7 (Berliner) Trinkwasser/Abwassersystem

In urbanen Gewässern konnte anthropogenes Gadolinium nachgewiesen werden (Kapitel 6.6) [3]. Hierbei zeigte sich, dass der Eintrag von Gadolinium ins Oberflächenwasser über Klärwerke erfolgt [35,52]. In Berlin und Umland existieren insgesamt sechs Klärwerke: Münchehofe, Schönerlinde, Stahnsdorf, Waßmannsdorf, Wansdorf und Ruhleben [139]. Es wird davon ausgegangen, dass das Gadolinium vorwiegend aus den Gd-Kontrastmitteln kommt, die in Krankenhäusern und Kliniken für das Magnetresonanztomographie verwendet werden. *Künnemeyer et al.* zeigte beispielsweise den Eintrag von Gd-Kontrastmitteln aus einem Krankenhaus ins Klärwerk, wo die klinischen Gd-Kontrastmittel wiedergefunden wurden [52]. Durch die Ausscheidung der Gd-Kontrastmittel nach MRT-Anwendungen gelangen diese über die Abwasserkanäle in die Klärwerke. *Raju et al.* konnte z.B. die Gd-

Spezies Gd-DTPA, Gd-BOPTA und Gd-BT-DO3A am Abfluss des Klärwerkes Wassmannsdorf nachweisen (vgl. Abbildung 7 im Kapitel 6.8)[140].

Neben dem regulären Eintrag von geklärtem Wasser können Kontrastmittel auch durch Notauslassstellen (technischer Defekt) bzw. bei starkem Regen (Regenüberlauf/Notauslass) als Abwasser direkt in die Kanäle und Flüsse gelangen, sodass das Oberflächenwasser auch z.T. Abwasser enthalten kann [141].

Die Kanäle und Flüsse in Berlin, in denen das Wasser der Klärwerke eingetragen wird, haben alle die Flussrichtung nach Süd-Westen von Berlin (siehe Abbildung 3) [139]. Daher ist zu erwarten, dass besonders hohe Konzentrationen an Gadolinium im Süd-Westen zu finden sind.



Abbildung 3: Berliner Wasser- und Klärwerke und deren Auslassstellen von geklärtem Wasser, sowie Flussrichtung der Oberflächengewässer (frei nach [139] und [62]).

Wie Kümmerer, Helmers und Telgmann et al. zeigten, schwankt die Konzentration von Gadolinium im Klärwasser je nach Uhrzeit und Wochentag, da am Wochenende und Nachts weniger MRT-Analysen in Krankenhäusern und Kliniken durchgeführt werden, sodass weniger Gd-Kontrastmittel eingetragen werden [35,142]. Dieser Wochenrhythmus kann natürlich leicht verzerrt sein, da das Abwasser eine bestimmte Zeit benötigt, um in und

durch das Klärwerk zu fließen. Andere Faktoren für höhere Schwankungen in der Gd-Konzentration kann das eingetragene Abwasservolumen sein. Für das Oberflächenwasser kommen noch unterschiedliche Wasserstände und Flussgeschwindigkeiten hinzu.

In Berlin gibt es neun Wasserwerke: Kaulsdorf, Tegel, Wuhlheide, Stolpe, Spandau, Kladow, Friedrichshagen, Tiefwerder und Beelitzhof (Abbildung 3). Die Trinkwassergewinnung in Berlin erfolgt zu ca. 70 % über Uferfiltration und Grundwasseranreicherungsanlagen [26,138]. Hierbei handelt es sich bei den Grundwasseranreicherungsanlagen um Orte, bei denen Oberflächenwasser in die Nähe von Grundwasserförderbrunnen in Becken geleitet wird, sodass das versickerte Wasser den Grundwasserspiegel erhöht [62]. 2003 belief sich der Anteil an Grundwasseranreicherung im Bezug zum gesamt gefördertem Grundwasser beispielsweise für das Wasserwerk Spandau auf 48 % [62].

Ob Gd-Kontrastmittel ins Grundwasser und damit ins Trinkwasser gelangt, ist bisher noch nicht aufgeklärt. Zwar konnten Gadoliniumanomalien nachgewiesen werden, jedoch wurde noch nicht analysiert, um welche Gd-Spezies es sich hierbei handelt [26,3,9].

6.8 ICP-MS – Induktiv gekoppelte Plasma – Massenspektrometrie

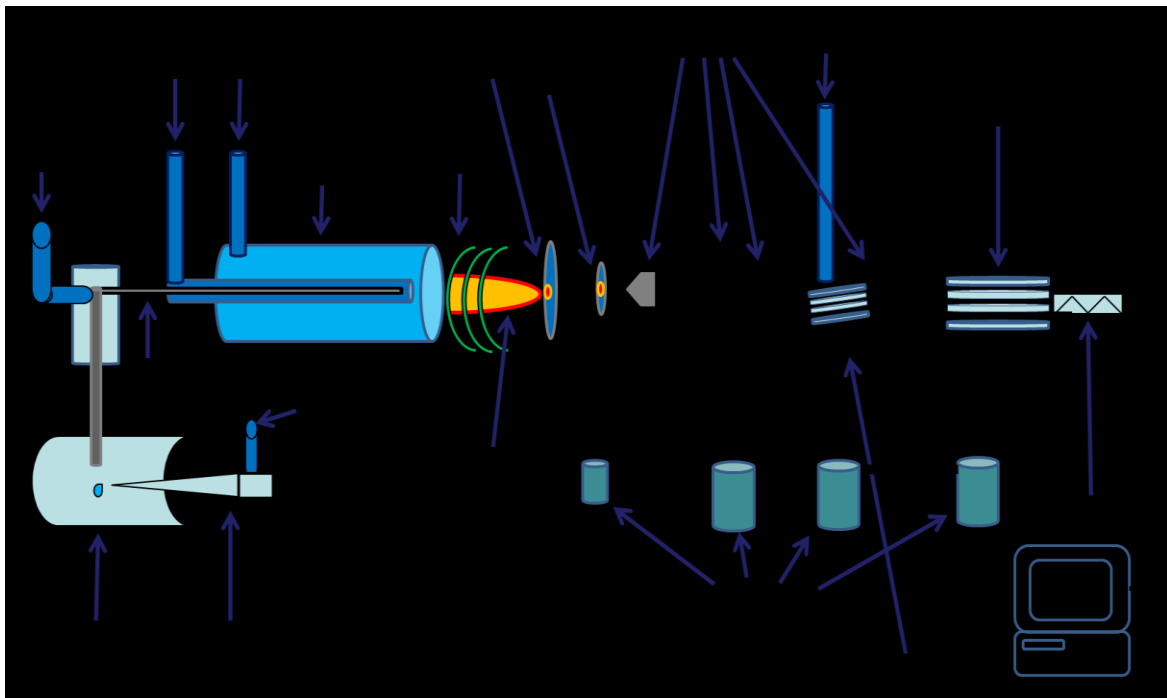


Abbildung 4: Aufbau eines ICP-MS Gerätes (schematisch).

ICP-MS steht für Induktiv gekoppelte Plasma – Massenspektrometrie (engl. *Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry*). Die ICP-MS ist eine Analysemethode zur Detektion von einzelnen Elementen (genauer: deren Ionen), insbesondere Metalle.

Seit der ersten Veröffentlichung zur ICP-MS im Jahr 1980 erlangte die Methode Anwendung sowohl in der Forschung als auch bei der Routineanalytik [143-147]. Seitdem hat sich die ICP-MS zur routinemäßigen Spuren- und Ultraspurenanalytik der meisten Elemente des Periodensystems entwickelt [148]. So zeichnet sich die ICP-MS nicht nur durch eine hohe Empfindlichkeit aus, sondern auch durch einen hohen linearen dynamischen Messbereich von mehr als 9 Größenordnungen, je nach Gerät. Zudem ist eine schnelle und einfache Multielementanalytik im pg pro Liter Bereich möglich [148].

Da bei der Analyse mittels ICP-MS die Speziesinformation des jeweiligen Analyten verloren geht, gibt es zahlreiche Entwicklungen, die die ICP-MS mit einer, meist chromatographischen Trennung koppeln. Dazu gehört z.B. die Kopplung mit Gaschromatographie (GC), Kapillarelektrophorese (CE) oder der Flüssigchromatographie (HPLC) [149-153].

Zur Trennung von Gd-Kontrastmitteln wurde in dieser Arbeit die HPLC (Kapitel 6.9) ausgewählt und an eine ICP-MS gekoppelt. So kann die Speziesauftrennung mittels HPLC erfolgen und die Gd-Kontrastmittel, die in Umweltproben nur im Ultraspurenbereich vorkommen, können über das Element Gadolinium (Kapitel 6.2) mittels ICP-MS identifiziert und quantifiziert werden.

Der Aufbau eines ICP-MS Gerätes kann in folgende Komponenten unterteilt werden: Probeneintrag, Plasma, Interface, Ionenfokussierung, Massentrennung und schließlich die Detektion. Ein schematischer Aufbau eines ICP-MS Gerätes für Flüssiganalytik ist in Abbildung 4 gezeigt.

Zuerst wird die Analyseprobe über eine Kapillare zum Zerstäuber geführt, wo mit Hilfe von Argon als Trägergas die flüssige Probe in feines Aerosol umgewandelt wird. Größere Tropfen werden in der Sprühkammer vom feinen Aerosol abgetrennt. Da die Ausbeute meist sehr gering ist, gelangt nicht mehr als 5 % der Probe ins Plasma [154]. Natürlich sind auch Aufbauten möglich, bei denen die Proben fast vollständig ins Plasma eingetragen werden, wie z.B. mittels direktem Injektionszerstäuber (DIHEN) [155,156]. Allerdings kann hier nur mit niedrigen Probenflüssen (nL min^{-1} – $\text{sub-}\mu\text{L min}^{-1}$) gearbeitet werden, sodass sich die absolute eingetragene Probenmenge nicht wesentlich verbessert. Der Vorteil der

direkten Injektion liegt im kleinen benötigten Probenvolumen und der daraus resultierenden Minimierung der Matrixeintragung ins Plasma.

Das Probenaerosol wird nun über das Injektorrohr in das Plasma eingetragen, hierbei kann der Transport des Aerosols durch die Addition eines Zusatz-Gases beeinflusst werden. Aber auch reaktive Gase wie Sauerstoff können beigefügt werden, um bei hohem Eintrag organischer Matrix, durch Lösungsmittel oder Probe, den Kohlenstoff zu CO / CO₂ zu verbrennen, womit eine Rußablagerung im Gerät verhindert werden kann. Eine einsetzende Rußablagerung ist zuerst als kleine, glühende Kohlenstoffablagerung am Samplercone zu erkennen, sodass die Funktionsfähigkeit des Interface nach kurzer Zeit nicht mehr gewährleistet ist bzw. Drifteffekte auftreten können. Weitere Maßnahme zur Minimierung von Kohlenstoffablagerung kann durch die Verwendung eines Injektorrohrs mit kleinerem Durchmesser, sowie starke Kühlung der Sprühkammer oder die Desolvatisation des Aerosols realisiert werden [140,157,158].

Als Plasmagas wird meist das Edelgas Argon verwendet. Die Verwendungen von z.B. He als Plasmagas sind eher von akademischen Interesse [159,160]. Argon wird wegen der hohen Inertheit und dem erschwinglichen Preis bevorzugt, aber auch weil das Gas im Plasma wenige Interferenzen bildet, die für die Analyse störend sein könnten. Zudem weist Argon ein hohes Ionisierungspotential auf, so dass die Ionisierung einer großen Anzahl verschiedener Analytate in Argon möglich ist [161].

Das Probenaerosol gelangt über ein Injektorrohr in die Fackel. Die Fackel besteht aus drei (konzentrischen) Quarzrohren. Das innerste Rohr ist das Injektorrohr, über welches das Probeaerosol ins Plasma transportiert wird. Im mittleren Rohr wird Argon als Hilfgas für das Plasma geleitet. Im Äußersten Rohr fließt das Plasmagas, oder auch Kühlgas genannt, und dient zur Kühlung der Fackel, um ein Schmelzen des Glases zu verhindern. Üblicherweise werden Flüsse von 10–20 Liter Argon pro Minute für das Plasmagas benötigt. Für das Zerstäuber- und Hilfgas liegt der Verbrauch meist um einem Liter pro Minute [145,147].

Das Plasma wird mit Hilfe eines Radiofrequenz-Wechselfeldes (27,1 MHz) in einer wassergekühlten Spule erzeugt. Initiiert wird das Plasma durch einen Tesla-Funken, der eine Freisetzung von Elektronen aus einigen Argonatomen bewirkt. Durch das Magnetfeld wird den freien Elektronen Energie zugeführt, die sie wiederum an die umliegenden Atome abgeben können. Durch die zugeführte Energie werden weitere Argonatome ionisiert. Die

Temperatur im Plasma beträgt 5000–10000 K [145]. Wenn das Probenaaerosol ins Plasma gelangt, so wird zuerst die Solvatisierungshülle verdampft, anschließend erfolgt die Dissoziation und Atomisierung der Moleküle, gefolgt von der Anregung und dann der Ionisation [162].

Das Interface besteht aus zwei konusförmigen Düsen (engl. cones), die auch als Samplercone und Skimmercone bezeichnet werden. Zwischen beiden wird ein Vorvakuum von ca. 1000 Pa erzeugt und dahinter beginnt ein Hochvakuum von meist weniger als 10 Pa. Das Hochvakuum ist notwendig für den Betrieb des Massenspektrometers. Die Cones bestehen meist aus Nickel oder Platin, je nach Anforderungen der Analyse. So ist beispielsweise bei der Verwendung von Sauerstoff im Plasma von Nickel als Conematerial abzuraten, stattdessen wird das inerte Platin, wie in dieser Arbeit, verwendet.

Der Samplercone ragt ins Plasma weswegen eine Kühlung notwendig ist. Er besitzt eine runde Öffnung von 0,4–1,2 mm Durchmesser, durch den ein Teil des Plasmas ins Interface gesaugt wird [147]. Ins Interface gelangen nicht nur Ionen, die für die Detektion von Interesse sind, sondern auch Atome, Moleküle und Photonen. Deswegen kommen zahlreiche elektrische Ionenlinsen zum Einsatz. Diese fokussieren nicht nur den Ionenstrahl, sondern diskriminieren auch Photonen und ungeladene Atome und Moleküle [163,164].

In dieser Arbeit kommt ein Quadrupol-Massenspektrometer zum Einsatz. Ein Quadrupol besitzt vier Metallstäbe an denen jeweils paarweise eine elektrische Gleich- und Wechselspannung angelegt wird. Dadurch entstehen zwei Dipole. Durch die Anpassung/Variation der angelegten Gleich- sowie Wechselspannung ist nur die Flugbahn jeweils eines Ionentyps mit bestimmtem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis stabil und gelangt so durch den Quadrupol. Alle anderen Ionen werden dabei aussortiert. Der Quadrupol ist vor allem zur Multielementanalyse gut geeignet, da die Spannung am Quadrupol sehr schnell variiert und stabilisiert werden kann. Zur Detektion der Ionen wird meist ein Elektronenvervielfacher verwendet [165].

Spektrale Interferenzen (molekulare, atomare und isobare) können im ICP-QMS nicht abgetrennt werden und können daher bei nicht ausreichender Auflösung als ungewollte Signale detektiert werden. Ein typisches Beispiel für molekulare Interferenzen ist $^{75}\text{ArCl}$ und ^{75}As . Hierbei hat das Molekülion das gleiche Masse-zu-Ladungs-Verhältnis wie der Analyt. Da das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) und nicht nur die Masse detektiert wird, treten auch Interferenzen durch Mehrfachladung der Ionen auf. So kann z.B. $^{68}\text{Zn}^+$ und $^{136}\text{Ba}^{2+}$ ein Signal

bei gleichen m/z Wert liefern. Isobare Interferenzen sind Ionen unterschiedlicher Elemente mit gleicher Isotopenmasse wie z.B. ^{115}In und ^{115}Sn .

Zur Unterdrückung molekularer und atomarer Interferenzen und zur Erzielung eines besseren Signal-zu-Rauschverhältnisses kann eine Kollisionszelle genutzt werden. Je nach Anwendung wird sie auch als Reaktionszelle bezeichnet. In der Kollisionszelle wird meist das inerte Gas Helium verwendet. Der Durchfluss beträgt meist zwischen $1\text{--}5\text{ mL min}^{-1}$. Hierbei kommt es zu Kollisionen der Analytione und der Interferenzen mit dem Gas in der Zelle. Da größere Ionen öfter mit dem Kollisionsgas zusammenstoßen, verlieren diese mehr Energie als die erwünschten Analytione, sodass die molekularen Interferenzen durch ein Gegenfeld am Ausgang der Kollisionszelle reduziert werden können [166].

In der Kollisionszelle kann auch ein Reaktionsgas verwendet werden. Dies kann beispielsweise Wasserstoff, Ammoniak, Sauerstoff oder Methan sein. Durch die Gase soll eine Ladungstransfer oder eine Masseverschiebung erzielt werden. Ein Beispiel für den Ladungstransfer ist die Verwendung von Wasserstoff bei der Detektion von $^{40}\text{Ca}^+$ um $^{40}\text{Ar}^+$ zu unterdrücken. Hierbei erfolgt ein Elektronentransfer vom Wasserstoff auf das Argonion ($^{40}\text{Ar}^+ + \text{H}_2 \rightarrow \text{Ar} + \text{H}_2^+$), sodass die Argon-Interferenz im Vergleich zum $^{40}\text{Ca}^+$ stärker verringert wird und somit ein besseres Signal-zu-Rauschverhältnis erzielt wird. Ein Beispiel für die Masseverschiebung ist die Detektion von Phosphor ($^{31}\text{P}^+$). Hierbei wird durch die Reaktion mit Sauerstoff die Detektion auf das Molekülion $^{31}\text{P}^{16}\text{O}^+$ verschoben. Die Detektion erfolgt auf $m/z = 47$ und nicht auf dem interferenzbelasteten m/z Wert 31 [167]. Nicht-spektrale Interferenzen sind bedingt durch Matrixeinflüsse und physikalische Eigenschaften der Analytprobe, sodass z.B. die Bedingungen des Plasmas durch den Probeneintrag verändert werden. Auch die Ionisation im Plasma kann je nach Analyt sehr verschieden sein. Um diese nicht-spektralen Interferenzen zu korrigieren, wird meist ein interner Standard verwendet. Der interne Standard sollte so gewählt werden, dass er eine vergleichbare Ionisierungsenergie mit dem Analyt aufweist, sowie weitere ähnliche Eigenschaften, z.B. Ionengröße und der Affinitäten zur Molekülbildung, z.B. der Oxidbildung. Wird das Analytsignal geschwächt oder verstärkt, so sollte dies im gleichen Maße mit dem internen Standard passieren, wodurch eine Korrektur des Analytsignals ermöglicht wird.

Die Detektion der Ionen erfolgt im Massenanalysator bezüglich der m/z (m = nominale Masse; z = Ladung). Für Routineanwendungen wird meist ein Quadrupolanalysator

verwendet [168]. Je nach Aufgabengebiet kommen auch TOF- (Time-of-Flight) oder Sektorfeld-Analysatoren zum Einsatz [169]. Die Vorteile des Quadrupolanalysators sind die hohe Robustheit, sodass nur wenig Wartung notwendig ist und die geringen Anschaffungskosten, aber auch die schnelle Scangeschwindigkeit [170]. Nachteilig ist hingegen die geringe Massenauflösung. Wird eine hohe Auflösung benötigt, um Interferenzen aufzulösen, so wird z.B. ein Sektorfeld-MS empfohlen.

6.9 HPLC – Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Neben der Konzentrationsbestimmung von Gadolinium mittels ICP-MS, soll in dieser Arbeit zum Nachweis und zur Identifizierung auch eine Speziesanalytik der Gd-Kontrastmittel erfolgen.

Die Auftrennung von Spezies kann z.B. über Kapillarelektrophorese (CE) oder Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC, engl. *High Performance Liquid Chromatography*) erfolgen. Für die Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln wurde hier die HPLC gewählt, weil die HPLC sich vor allem sehr gut für thermisch labile Substanzen eignet, die beispielsweise über die Gaschromatographie (GC) schwer zu analysieren sind. Neben der HPLC ist auch die CE für die Analyse von geladenen Gd-Kontrastmitteln geeignet [93,171]. Da aber neben den geladenen Gd-Kontrastmitteln auch ungeladene Gd-Kontrastmittel und Gd-Spezies analysiert werden sollen, wurde die HPLC zur Trennung der Gd-Spezies gewählt.

Die Trennung mittels Flüssigkeitschromatographie erfolgt durch das Prinzip der Einstellung von Gleichgewichten zwischen einer „mobilen Phase“ und einer „stationären Phase“. Durch unterschiedliche Verweildauer der jeweiligen Analyten auf der stationären Phase kommt es zu unterschiedlicher Retention und somit zur Auftrennung der Spezies. Die Verweildauer der Analyten wird durch die Affinität der einzelnen Spezies zur stationären Phase, aber auch zur mobilen Phase bestimmt. Die mobile Phase, auch Eluent genannt, wird dabei über die stationäre Phase (auch als Säule bzw. Säulenmaterial bezeichnet) gepumpt. Somit kann durch die geeignete Wahl von Eluenten und Säulenmaterial eine Trennung von diversen Spezies erfolgen. Hierbei ist es üblich, dass mehrere Eluenten gemischt werden und im Gradienten verwendet werden [172].

Abbildung 5 zeigt den schematischen Aufbau einer HPLC-Einheit. Der bzw. die Eluent(en) werden über einen Filter bzw. eine Fritte angesaugt. Dabei verhindert der Filter, dass

größere Partikel aus dem Eluenten in das HPLC System und auf die Säule gelangen. Zudem wird eine Vorsäule bzw. Filter direkt vor die Säule geschaltet, die zusätzlich Verunreinigungen oder Ausfällungen abfängt. Der Eluent wird zunächst entgast, da dieser einem hohen Druck ausgesetzt wird und es so zur Gasblasenbildung kommen würde, welches die Trennung der Analyten und die Stabilität der Detektion beeinträchtigt.

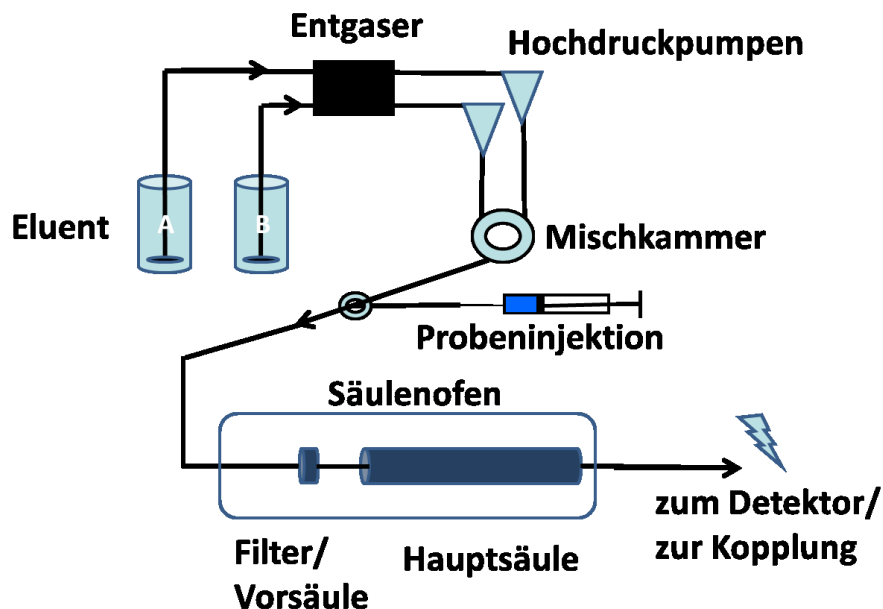


Abbildung 5: Aufbau einer HPLC-Einheit (schematisch).

Die Probeninjektion erfolgt meist über ein Mehr-Wege-Ventil in den Eluenten, der im Weiteren über die Säule gepumpt wird. Bei Bedarf kann auch die Säulentemperatur über den Säulenofen reguliert werden, um die Trennung zu optimieren, oder einfach nur um konstante Messbedingungen zu ermöglichen, da die Retentionszeit je nach Temperatur variieren kann. Nach der Trennung erfolgt die Detektion. Diese kann direkt über UV/VIS Absorption erfolgen, oder aber durch die Kopplung an externe Geräte, die als Detektor fungieren, wie z.B. das ICP-MS (siehe Kapitel 6.8) [173].

Je nach Aufgabenstellung können verschiedene Säulenmaterialien eingesetzt werden. Hierbei ist als Beispiel die Größenausschlusschromatographie, die Adsorptionschromatographie sowie die Trennung an immobilisierten Flüssigkeiten zu nennen. Das Prinzip der Größenausschlusschromatographie beruht auf der sterischen Hinderung unterschiedlich großer Moleküle durch das Säulenmaterial, das Material besteht meist aus einem Gel. Für die HPLC hat die Adsorptionschromatographie große Bedeutung,

hierbei steht eine große Auswahl an Säulenmaterialien zu Verfügung. Die stationäre Phase besteht meist aus porösen Material oder kleinen Partikeln, sodass eine hohe Oberfläche erzeugt wird. Eine hohe Oberfläche, an der die Analyten adsorbieren, ist für eine gute Trennung notwendig. Am meisten kommt Kieselgel (Silicagel) als Säulenmaterial zum Einsatz, wobei dieses meist durch organische Gruppen modifiziert wird. Als Beispiel ist hier die Modifikation mit Octyl (C8) oder Octadecyl (C18) zu nennen, sowie als polare Varianten Amino- oder Cyanogruppe. Die Modifikation erfolgt durch kovalente Bindung an das Silicagel oder an Polymere und führt so zu einer Immobilisierung der organischen Gruppen. Die gebundenen Gruppen bleiben teilweise sehr beweglich, sodass sie sich ähnlich einer Flüssigkeit verhalten. Deswegen kann auch von einer immobilisierten Flüssigkeit gesprochen werden, in der nicht mehr eindeutig von Adsorption, sondern teilweise auch von Absorption des Analyten auf der „stationären Phase“ ausgegangen wird [172].

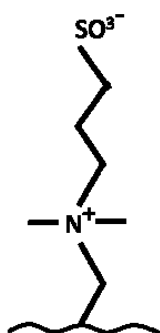
Die Adsorptionschromatographie kann je nach Eigenschaft weiter unterteilt werden. Hierbei sind u.a. die Normal- und die Umkehrphasen zu nennen, sowie die Ionen- und die Affinitätschromatographie. Die eben beschriebenen Silicagel-modifizierten Materialien mit z.B. C8 gehören zu den Umkehrphasen. Diese werden auch als RP abgekürzt (engl. Reverse Phase). Die Normalphase besitzt eine polare Oberfläche, wie z.B. unmodifiziertes Silicagel. Der Nachteil an diesem Material ist die hohe Heterogenität der verwendeten Partikel, sodass keine gut reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden. Zudem kann starkes Fronting und Tailing, also Signalunförmigkeit, beobachtet werden. Da zudem viele Biomoleküle in hohe Konzentrationen an organischen Lösungsmitteln destabilisiert werden, kommt die ursprüngliche Normalphase kaum noch zur Anwendung [174].

Auf Grund der guten und reproduzierbaren Trennleistung von RP-Säulen, hat sich die RP-Chromatographie für die Trennung von diversen organischen Molekülen als Hauptmethode durchgesetzt. Als Eluent wird für die RP, die eine unpolare Oberfläche besitzt, ein polares Lösungsmittel, wie z.B. Wasser, verwendet. Um die Retention von sehr unpolaren Verbindungen zu beschleunigen, kann die Elution mit einem geringen Anteil an organischen Lösungsmitteln unterstützt werden. Aber auch die schrittweise Erhöhung (Gradient) des organischen Lösungsmittelanteils über den Retentions/Trennverlauf ist möglich.

6.9.1 ZIC-HILIC – Hydrophile Interaktionschromatographie

Modernere Normalphasen sind meist modifizierte Silikagele oder Polymere die mit einer polaren, hydrophilen Oberfläche modifiziert werden. Als Beispiel ist hier die Hydrophile Interaktionschromatographie zu nennen. Die gängige Abkürzung dafür lautet HILIC (*engl. Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*). Im Gegensatz zu einer einfachen Normalphase, bei der die Trennung hauptsächlich über Adsorptionsmechanismen stattfindet, läuft der Trennmechanismus bei der HILIC zusätzlich zur Adsorption an der Oberfläche, hauptsächlich über die Gleichgewichtseinstellung des Analyten zwischen mobiler Phase und einer Wasserphase, die auf dem Säulenmaterial adsorbiert ist, ab [174,175]. Eine Variante der HILIC ist die ZIC-HILIC, hierbei steht die Ergänzung ZIC für „zwitterionisch“ (*engl. zwitter ionic*). Das Material weist nicht nur hydrophile Eigenschaften auf, sondern auch zwitterionische. Als Variante der ZIC-HILIC, die in dieser Arbeit verwendet wird, ist ein mit Sulfoalkylbetain modifiziertes Silica-Material zu nennen (Abbildung 6). Eine weitere Variante, die ebenfalls verwendet wird, ist das mit Phosphorylcholin modifizierte Silica [176]. Die Herstellerbezeichnung hierfür ist „ZIC-cHILIC“, diese Bezeichnung wird auch in dieser Arbeit verwendet, um beide zwitterionischen hydrophilen Interaktionschromatographiesäulen/materialien unterscheiden zu können. Die chemischen Strukturen der beiden Materialien sind in Abbildung 6 abgebildet.

ZIC - HILIC



ZIC - cHILIC

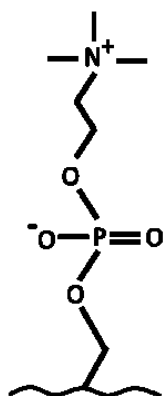


Abbildung 6: Schematischer Vergleich der Zwitterionischen Stationären Phasen von ZIC-HILIC und ZIC-cHILIC.

Neben der polaren Phase der HILIC weist die zwitterionische noch weitere mögliche Wechselwirkungen zwischen Analyten und Stationärer Phase auf, die auf die zwei

unterschiedlichen Ladungen beruhen, die durch eine hydrophobe Kette getrennt sind [177]. ZIC-HILIC und ZIC-cHILIC unterscheiden sich vor allem in der Ladung der Kopfgruppe. Die Kopfgruppe ist bei der ZIC-HILIC negativ (SO_3^-) und bei ZIC-cHILIC (NR_3^+) positiv. Diese elektrostatischen Interaktionen durch die Zwitterionen sind insbesondere interessant für die Trennung von ionischen Verbindungen, wie z.B. einigen Gd-Kontrastmitteln (Gd-DTPA, Gd-BOPTA, Gd-DOTA). Ein anderer Aspekt, der für die Trennung von Gd-Kontrastmitteln von Interesse sein kann, ist das Zeta-Potential (Netto-Ladung der Oberfläche) des Säulenmaterials. Dies ist für die ZIC-HILIC negativ, bei der ZIC-cHILIC hingegen fast neutral [178]. Da die Gd-Kontrastmittel neutral oder negativ-geladen sind, ist eine bessere Trennung auf der ZIC-cHILIC gegenüber der ZIC-HILIC denkbar. Ein weiterer Aspekt für die Trennung von Analyten ist der Einfluss von Salzkonzentrationen, wie z.B. Ammoniumacetat. So blockieren die Ammoniumionen (NH_4^+) die Anzahl an freien SO_3^- -Gruppen durch deren Bindung. Damit werden negativ-geladenen Analyten weniger stark abgestoßen (Repulsion), sodass dadurch die Trennleistung von anionischen Analyten erhöht werden kann. Das Acetation (vom Ammoniumacetat) bindet zudem an die NR_4^+ Gruppe des Säulenmaterials. Durch die Blockierung der beiden ionischen Bindungsstellen des Säulenmaterial kommt es zu einer Verminderung der ionischen Interaktion von Analyt und Säulen, so dass der Salzgehalt im Eluenten eine wichtige Rolle für die Trennung von ionischen Analyten darstellen kann. Als weiteren Aspekt des Salzgehaltes im Eluenten ist zu beachten, dass durch eine Erhöhung des Salzgehaltes die Wasserschicht auf der Stationären Phase vergrößert wird, so dass es zu einer Retentionszeit-Verlängerung von hydrophilen Substanzen kommen kann [178].

Bei der zwitterionischen hydrophilen Interaktionschromatographie ist durch den hydrophoben Anteil im Säulenmaterial zudem auch teilweise eine Trennung von leicht hydrophoben Substanzen möglich [179,180]. Positiv gesehen, ist die ZIC-(c)HILIC eine Methode, die für sehr viele Aufgabenstellungen herangezogen werden kann. Hingegen ist aber zu beachten, dass durch die Vielzahl an Trenneigenschaften der Säule eine Methodenentwicklung schwieriger wird. Auch ist ein Gradientensystem für die ZIC-(c)HILIC im Vergleich zur RP problematischer, da die Equilibrierung der ZIC-(c)HILIC eine längere Zeit benötigt. Die hängt u.a. mit der adsorbierten Wasserphase auf der Stationären Phase zusammen, die sich je nach Wassergehalt im Eluenten langsam verändert und dabei starken Einfluss auf den Trennmechanismus haben kann. Zudem sollte ein Wassergehalt von 3 % im

Eluenten nicht unterschritten werden, da es sonst zu einer Dehydration der stationären Phase kommt, was sich negativ auf die Trennleistung auswirken kann [179].

Für die Trennung von Gd-Kontrastmitteln zeigte die ZIC-HILIC im Gegensatz zur RP gute Trenneigenschaften [181,182], da die Kontrastmittel sehr hydrophil und polar sind, und damit eine hohe Retention auf dem HILIC Material erfahren [183,184]. Hinsichtlich der Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln sei auf das Kapitel 6.10 verwiesen.

6.10 Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln

Eine Speziesanalytik für Gadolinium bzw. Gd-Kontrastmittel ist wichtig, da sich die Spezies im Verhalten und Toxizität stark unterscheiden. Über die Speziationsanalytik können z.B. Abbau- und Dekomplexierungsprozesse verfolgt werden und so einen wichtigen Betrag zum Verständnis über Gd-Kontrastmittel liefern. Ebenso ist es von Interesse Gd-Spezies zu identifizieren, um Aussagen über einzelne Gd-Kontrastmittel zu treffen und Gefährdungspotentiale abzuschätzen. Typischerweise werden die Analyten mittels HPLC oder CE getrennt und mit einem selektiven Detektor gekoppelt - dieser kann beispielsweise ein ICP-OES, ICP-MS, ESI-MS oder UV/VIS-Detektor sein.

Um einzelne Gd-Kontrastmittel zu trennen, wurde bisher meist eine HPLC mit Reverse Phase Säule verwendet. Die Analyse erfolgt beispielsweise mit einem UV-Absorption Detektor, z.B. für die Analyse von Gd-BOPTA in Blutplasma, Urin, Kot, Gallenflüssigkeit von Patienten, die einem Gd-Kontrastmittel ausgesetzt waren [185].

Kahakachchi et al. analysierten hingegen mehrere Gd-Kontrastmittel gleichzeitig. Hierfür benutzten sie zur Separation der Gd-Kontrastmittel eine HPLC mit Reverse Phase (RP) Säulen, die mit einem ICP-OES gekoppelt wurden [181]. Die Analyse wurde verwendet um Gd-Kontrastmitteln aus gespickten Blutplasmaproben zu identifizieren. Das Problem bei der Separation von Gd-Kontrastmitteln ist die hohe Hydrophilie und Polarität der Gd-Kontrastmittel, die ein schlechtes Retentionsverhalten auf RP-Säulen zeigen, sodass eine Separation von mehreren Gd-Kontrastmitteln nur schwer zu realisieren ist. *Kahakachchi et al.* lösten das Problem, indem sie mehrere RP-Säulen je nach Aufgabenstellung verwendeten. Hierfür wurde eine RP („WatersXTerra“) für die Analyse der Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA-BMEA, Gd-HP-DO3A, Gd-DTPA verwendet. Für die Analyse von Gd-

DTPA-BMA und Gd-DOTA wurde die RP „*Phenomenex Synergi*“ und für die Analyse von Gd-BOPTA die RP-Säule „*Thermo BDS Hypersil*“ verwendet [181].

Um fünf typische Gd-Kontrastmittel mit einer HPLC-Säule gleichzeitig zu trennen, verwendete *Künnemeyer et al.* für die Separation erstmals eine ZIC-HILIC. Die Detektion erfolgte mit einem ESI-MS [182]. Auf Grund der hohen Hydrophilie der Gd-Kontrastmittel ist die HILIC, im Vergleich zur RP, eine geeignetere Methode, um die Gd-Kontrastmittel zu trennen. Hierbei wurden mit der HILIC die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA, Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA und Gd-BOPTA in Blutplasma von MRT-Patienten getrennt und analysiert [182]. Diese Analysetechnik wurde für die Gd-Kontrastmittel in weiteren Anwendungen beschrieben und modifiziert. So verwendete *Künnemeyer et al.* die ZIC-HILIC Methode und koppelte sie an ein ICP-MS, um Gd-Kontrastmittel im Abwasser zu analysieren und so den Weg vom Krankenhaus zum Hauptklärwerk in Münster zu dokumentieren [52]. Hierbei wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A identifiziert. Die Spezies-Analyse im Klärwerk zeigt einen Abfall der Konzentrationen zur Ausgangskonzentration an und deutet auf einen Abbau der Gd-Kontrastmittel im Klärwerk hin, aber auch Verdünnungseffekte und verschiedene Probenahmezeiten können starke Auswirkungen auf die Konzentrationen haben. Die dominante Spezies in dieser Untersuchung ist das Kontrastmittel Gd-BT-DO3A. Dies passt gut in das Bild, dass die Mehrzahl der befragten dortigen Krankenhäuser das Kontrastmittel Gd-BT-DO3A bevorzugen [52]. Der Vergleich der Gd-Kontrastmittelkonzentration und der Gd-Gesamt-Konzentration unterscheiden sich sehr stark, sodass die Autoren eine Transmetallierung der Gd-Kontrastmittel annehmen. Die Gd-Gesamt-Konzentration wurde über die ICP-MS bestimmt, da eine Gd^{3+} Analyse mittels ZIC-HILIC schwer zu realisieren ist, da das Gd^{3+} auf der stationären Phase (an die terminale funktionale Gruppe $-SO_3^-$) adsorbiert wird. *Chinthalapati et al.* fand im Gegensatz zu *Künnemeyer et al.* vergleichbare Konzentration von Gd-Kontrastmitteln an der Klärwerkeinlass und -auslassstelle in Wassmannsdorf (bei Berlin). Hierbei wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A und Gd-DTPA identifiziert (Abbildung 7). Als Analyse diente ebenfalls die ZIC-HILIC-ICP-MS, wobei der Eluent und die Flussrate variiert wurden [140]. Zudem wurden verschiedene Oberflächenwasserproben in der Berliner Umgebung genommen und hinsichtlich der Gd-Kontrastmittel analysiert. Die höchste Gesamt-Konzentration wurde hierbei im Wannsee (Süd-Westen von Berlin) mit 412 ng Gd L^{-1} gefunden, als Spezies wurden Gd-BOPTA, Gd-

DTPA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA identifiziert [140]. *Telgmann et al.* analysierte mittels ZIC-HILIC – ICP-MS die Gd-Kontrastmittel im Klärwerkwasser über einen Zeitraum von sieben Tagen [142]. Hierbei wurde ein Gd-Abbau bzw. Verlust von ca. zehn Prozent im Klärwerk festgestellt. Bei der Analyse des Klärschlammes wurde keine Gd-Anomalie festgestellt, hingegen wurden beim Entwässern des Klärschlammes zwei Gd-Kontrastmittel und drei unbekannte Gd-Spezies identifiziert. Dies lässt vermuten, dass eine Transformation der Gd-Kontrastmittel unter anaeroben Bedingungen stattfinden kann [142].

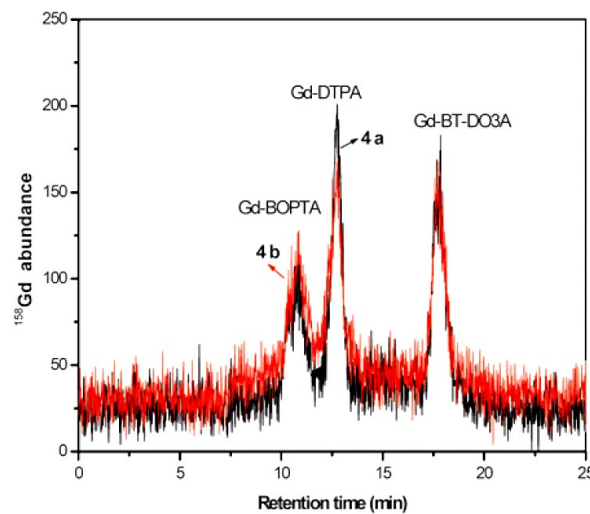


Abbildung 7: Gd-Speziesanalytik vor (schwarz) und nach (rot) dem Klärwerk Wassmannsdorf [140].

Birka et al. entschieden sich für die Nutzung einer Accucore-HILIC Säule, um vier potentielle Gd-Kontrastmittel zu identifizieren. Die Analyse erfolgte von gereinigtem Abwasser in Kanälen, die das Abwasser ins Oberflächenwasser transportieren. Hierbei wurden die Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA identifiziert, die Konzentrationen blieben im Kanal konstant. Da nur 74–89 % des gesamten Gadoliniums durch die drei Gd-Kontrastmittel erklärt werden kann, wird vermutet, dass weitere Gd-Spezies vorhanden sind [157].

Telgmann et al. verwendete für die Analyse von Gd-DTPA und Gd-DOTA und deren Fe-Transmetallierungsprodukten jeweils unterschiedliche Säulen. Für die Analyse von Gd-DTPA und Fe-DTPA wurde eine Accucore-HILIC verwendet, für die Analyse von Gd-DOTA und Fe-DOTA wurde eine Hypercarb-Säule verwendet [186].

Neben der Verwendung der HPLC für die Gd-Speziesanalytik gibt es auch einige Anwendungen der Kapillarelektrophorese (CE) [93,187,130] und Größenausschlusschromatographie (SEC), für die Trennung von Gd-Kontrastmitteln und freiem Gd^{3+} [188-190].

6.11 Gadolinium in Pflanzen und Organismen

Beim Abbau von Gadolinium-basierten Kontrastmitteln in der Umwelt besteht die Gefahr, dass die Kontrastmittel metabolisiert werden und das gebundene Gadolinium aus den Chelaten freigesetzt wird. Das freie Gadolinium kann wiederum von verschiedenen Pflanzen und Organismen aufgenommen werden. So wurde von *Yang et al.* und *Sun et al.* gezeigt, dass eine Anreicherung von Gadolinium in Weizenpflanzen erfolgt. Zudem führt der Chelatbildner EDTA als Zusatz zu einer Erhöhung der Bioakkumulation in Stängeln und Blättern und zu einer Verringerung in der Wurzel [114,191]. Die Aufnahme von Gadolinium konnte u.a. auch in Kressepflanzen gezeigt werden. Die Untersuchung deutet darauf hin, dass durch den Zusatz von Citronensäure, das als Komplexbildungsreagenz dienen kann, die Metallaufnahme in Pflanzen erhöht wurde [192]. Untersuchungen zeigten ebenfalls die Aufnahme von Seltenen Erden durch Algen. Die Aufnahme war allerdings bei Dunkelheit inhibiert [193]. Algen, die neben Gadolinium auch Komplexbildungsmitteln wie z.B. EDTA, NTA, Citronensäure ausgesetzt waren, wiesen nach *Sun et al.* eine geringe Metallaufnahme auf, je stärker das Komplexbildungsmittel war. Eine Sättigung des Gadoliniumgehalts stellte sich bei diesen Experimenten schon nach 15 Stunden ein [194].

Die Untersuchung der Verteilung von Gadolinium im aquatischen Modellsystem zeigte in der Arbeit von *Yang et al.*, dass 82 % des Gadoliniums im Sediment wiederzufinden ist, der Anteil im Wasser betrug nur 17 %, wobei *Yang et al.* vermutet, dass das sedimentgebundene Gadolinium wieder gelöst werden kann. Bei diesem Experiment kam es in der Biota zur Anreicherung von Gadolinium im Phytoplankton und in kleineren Mengen in Schalentieren. Von Daphnien und Goldfischen wurde zwar Gadolinium aufgenommen, allerdings kam es nicht zu einer Anreicherung (Bioakkumulation), sodass die Gd-Konzentrationen unter denen der Umgebung (Wasser) blieben [195]. Ein weiteres Experiment zur Gd-Aufnahme in die Biota wurde von *Tu et al.* durchgeführt. Hierbei wurden Karpfen für 45 Tage Gadolinium ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) ausgesetzt, anschließend wurde der Gadoliniumgehalt bestimmt. Dabei zeigte sich, dass es zu einer hohen Anreicherung in den

inneren Organen kommt, sowie zur Anreicherung im Muskel, in Kiemen und dem Skelett [196].

Cabella et al. untersuchten die Aufnahme von Gd-Kontrastmitteln in Rattenzellen. Hierbei konnte die Aufnahme von allen untersuchten Gd-Kontrastmitteln (Gd-DTPA-BMA, Gd-DOTA, Gd-DTPA, Gd-HP-DO3A) gezeigt werden. Wobei die Aufnahme von Gd-DTPA-BMA um eine Größenordnung höher war, im Vergleich zu den anderen Gd-Kontrastmitteln. Eine Sättigung von Gd-DTPA-BMA stellte sich bei 4 mmol L^{-1} ein. Wird kommerzielles Omniscan®, als Gd-DTPA-BMA mit 10 % Ca-DTPA-BMA, verwendet, so reduziert sich die Aufnahme um 50 %. Erhöht wurde die Aufnahme hingegen durch Inkubation mit Kaliumphosphat (1 mM). Eine Wirkung der Phosphationen auf das Kontrastmittel Gd-HP-DO3A konnte nicht festgestellt werden [95].

Da gezeigt wurde, dass Gadolinium in Pflanzen und Biota aufgenommen wird, besteht die Frage, ob es in der Umwelt ebenfalls zu einer Aufnahme von Gadolinium, aus Gd-Kontrastmittel kommt, bzw. ob die Pflanzen und Biota die Gd-Kontrastmittel unverändert aufnehmen und akkumulieren. Dieser Fragestellung wird in dieser Arbeit nachgegangen.

6.12 Anreicherungstechniken

Da Gd-Kontrastmittel im eingeleiteten Oberflächenwasser stark verdünnt werden, liegen deren Konzentrationen teilweise unter der Nachweisgrenze (sub-ng L^{-1}) der atomspektrometrischen Methoden. Wenn nun die Gd-Spezies, nach dem Eintrag des geklärten Wassers ins Oberflächenwasser, weiter in der Umwelt verfolgt werden sollen, so ist eine Anreicherung der Gd-Spezies notwendig. Denkbare Anwendungsfelder sind hierbei die Analysen von Gd-Spezies in verdünntem Oberflächenwasser, Grund- und Trinkwasser, Pflanzen und Böden.

Gd-Kontrastmittel sind hydrophile und polare Spezies, sodass die Anreicherung der Gd-Kontrastmittel aus wässriger Matrix schwieriger ist, gegenüber den meisten Arzneimitteln, die über Reverse Phasen C8 – 18 angereichert werden können [62,197-199].

Durch die unterschiedlichen Eigenschaften der Gd-Kontrastmittel-Spezies muss das Beladungsmaterial sehr allgemein formuliert sein, um diese anzureichern. Als Material kann beispielsweise Aktivkohle vorstellbar sein. *Krishnan et al.* zeigte, dass eine Beladung der Chelate NTA und EDTA, die chemisch mit den Kontrastmittel-Chelaten verwandt sind, auf Aktivkohle möglich ist [200,201]. Die EDTA-Lösung wurde hierbei mit Aktivkohle versetzt,

geschüttelt und anschließend abfiltriert. Eine Elution erfolgte hierbei nicht, sodass lediglich die erfolgreiche Beladung gezeigt wurde. Bei der Bindung von EDTA an die Aktivkohle steigt der pH-Wert in der Lösung an, daher schlussfolgern die Autoren, dass die Aktivkohle Hydroxidionen abgibt, sodass das Material als Anionenaustauscher wirkt [201]. *Kemmer et al.* zeigte eine Anreicherung von EDTA auf Aktivkohle. Hierbei wurde das EDTA vor der Anreicherung mit Eisenionen (FeCl_3) beladen und so zu Fe-EDTA umgewandelt. Die Elution erfolgte mit $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$; allerdings berichten die Autoren, dass die Stabilität von Fe-EDTA bei hoher Säurekonzentration stark abnimmt. Die Elutionsausbeute für $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ beträgt 60–70 % [202].

Andere polare Verbindungen wie z.B. Organophosphat-Pestizide (OPP) reicherten *Hayama et al.* auf Aktivkohle an. Als Eluent diente eine Mischung aus Acetonitril, Isopropanol und Methansäure. Hierbei konnten die Spezies zu 75–100 % eluiert werden, die Speziesanalyse erfolgte über HILIC-MS/MS [203]. Diverse Amine und Amide (sowie weitere Verbindungen) wurden von *Kawata et al.* auf Aktivkohle angereichert. Die Elution erfolgte mit Aceton wobei eine Elutionsausbeute von 80–100 % erzielt werden konnte. Die Speziesanalyse erfolgte mittels GC-MS [204].

Für die Anreicherung von Gd^{3+} -Ionen gibt es gängige Anreicherungsverfahren, die auch für die Anreicherung von weiteren Seltenen Erden verwendet werden [14]. Hierbei wird beispielsweise Chelex 100 oder Toyopearl (Iminodiacetat), ein schwacher Kationenaustauscher, verwendet [205-209]. Eine andere Methode ist die Beladung eines C18-Säulenmaterials mit Ethylhexylphosphat, eine Verbindung die Seltene Erden bindet [3,11,135,210-212]. Mit dieser Methode konnten *Hennebrüder et al.* auch Gd^{3+} -Ionen aus Gd-DTPA mit einer Wiederfindung von 70 % anreichern [14]. Da die Elution unter sehr harschen Bedingungen (mit $6 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ bzw. HNO_3) erfolgt, kann lediglich das Gadolinium aus dem Kontrastmittel Gd-DTPA nachgewiesen werden. *Raju et al.* zeigte, dass mit dieser Anreicherungs-methode auch die Anreicherung von Gd^{3+} -Ionen aus weiteren Gd-Kontrastmitteln wie Gd-BOPTA, Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A möglich ist. Hierbei wurde eine Wiederfindung von 94 – 100 % angegeben. Die Wiederfindung für das Säulenmaterial Chelex 100 betrug für die Gd-Kontrastmittel <10–32 %, eine Anreicherung auf einem starkem Kationenaustauscher (SCX) war nicht erfolgreich [213]. Warum *Raju et al.* keinen Anionenaustauscher verwendete, um die negativ geladenen Gd-Kontrastmittel anzureichern, wurde nicht erwähnt [213]. Dabei zeigen einige Veröffentlichungen, dass

Komplexbildner wie EDTA und DTPA auf starkem Anionenaustauschermaterial (SAX) angereichert werden können [214-216]. Daher sollte es denkbar sein, dass auch eine Anreicherung von negativ-geladenen Gd-Kontrastmitteln wie z.B. Gd-DTPA, Gd-DOTA oder Gd-DTPA-BMA auf diesem Material möglich ist. Problematisch ist allerdings, dass in den Publikationen für die Elution von SAX stark saure Bedingungen beschrieben werden, in dessen Medium die Gd-Kontrastmittel nicht stabil sind (vgl. Tabelle 5, Kapitel 6.5 Transmetallierung und Abbau von Gd-Kontrastmitteln) [27,28,107].

Auf Grund der harschen Bedingungen bei den beschriebenen Anreicherungsverfahren für die Gd-Kontrastmittel können diese nicht als Spezies konserviert werden, sodass keine Speziesanalytik möglich ist. Eine Methode zur Spezies-konservierenden Gd-Kontrastmittel-Anreicherung wird im Rahmen dieser Arbeit entwickelt. Hierbei werden verschiedene Anreicherungsverfahren basierend auf Aktivkohle, sowie SAX, verglichen.

6.13 Schlussfolgerung

Es liegen viele offene Fragen zum Verbleib von Gd-Kontrastmitteln in der Umwelt vor. Dies umfasst den Eintrag sowie die Verteilung von Gd-Kontrastmittel in die Umwelt. Es ist unklar in wie weit die Gd-Kontrastmittel abgebaut werden, nachdem sie vom Klärwerk ins Oberflächenwasser eingetragen werden. Zudem ist unklar in wie weit die Gd-Kontrastmittel mit der Biosphäre wechselwirken und in Pflanzen und Tiere aufgenommen, metabolisiert und angereichert werden. Ebenfalls ist es möglich, dass Gd-Kontrastmittel in das Grundwasser gelangen und von dort in das urbane Trinkwasser. Ein Eintrag der Gd-Kontrastmittel in die Nahrungskette kann somit nicht ausgeschlossen werden.

7 Experimenteller Teil

7.1 ICP-MS Parameter und ICP-MS Metallanalyse

Für die Messungen mittels ICP-MS wurden in dieser Arbeit zwei ICP-MS Instrumente verwendet. Hierbei handelt es sich um das *Agilent7500cs* (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) sowie um das *iCAP-Q* (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Deutschland). An beiden Geräten wurde sowohl mit HPLC-Kopplung als auch ohne Kopplung gemessen. Die Geräteparameter für das Agilent7500cs sind in Tabelle 8 aufgelistet. Die Geräteparameter für das iCAP-Q sind in Tabelle 9 und in Tabelle 10 aufgelistet. Die Bestimmung von Gadolinium erfolgte auf dem Masse-zu-Ladung-Verhältnis von $^{158}\text{Gd}^+$. Zudem wurden optional weitere Isotope der Seltenen Erden gemessen ($^{139}\text{La}^+$, $^{140}\text{Ce}^+$, $^{141}\text{Pr}^+$, $^{146}\text{Nd}^+$, $^{147}\text{Sm}^+$, $^{153}\text{Eu}^+$, $^{159}\text{Tb}^+$, $^{163}\text{Dy}^+$, $^{165}\text{Ho}^+$, $^{166}\text{Er}^+$, $^{169}\text{Tm}^+$, $^{172}\text{Yb}^+$, $^{175}\text{Lu}^+$); dies ist im jeweiligen Kapitel vermerkt.

Für die Speziesanalytik der Gd-Kontrastmittel wurde in dieser Arbeit HILIC als Säulenmaterial verwendet, bei dem der Eluent zum großen Teil aus dem organischen Lösungsmittel Acetonitril besteht. Acetonitril neigt im Plasma zur Bildung von Ruß, der sich u.a. auf der Fackel, und den Cones ablagert und somit die Messung stark beeinträchtigt. Deshalb wurden bei allen Messungen mittels HPLC-ICP-MS dem Plasma ein Argon-Sauerstoffgemisch beigelegt. Der Sauerstoff bewirkt die Verbrennung des organischen Materials zu Kohlenoxidspezies und verhindert somit eine Rußbildung.

Tabelle 8: ICP-MS Parameter für das Agilent 7500cs.

Instrument	Agilent 7500cs (Agilent Technologies)
Plasmaleistung	1500 W
Plasma Gas Fluss	15 L min ⁻¹
Hilfsgas Fluss	0,25 L min ⁻¹
Zerstäubergas Fluss	0,75 L min ⁻¹
Zusatzgas Fluss (O ₂ /Ar 20:80)	0,15 L min ⁻¹ Ar/O ₂ für HPLC-ICP-MS Kopplung
Dwell time (Gd, Pr)	10–50 ms
Sprühkammerkühlung	2–3 °C, Peltier-Kühlung
Injektor	2,5 mm
Skimmer und Sampler Cones	Pt
Kollisionszelle (CCT-Modus)	Off Modus

Tabelle 9: ICP-MS Parameter für das iCAP-Q.

Instrument	Thermo iCAP-Q (Thermo Fisher Scientific)
Plasmaleistung	1550 W
Plasma Gas Fluss	14 L min ⁻¹
Hilfsgas Fluss	0,8 L min ⁻¹
Zerstäubergas Fluss	0,9–1,1 L min ⁻¹
Zusatzgas Fluss (O ₂ /Ar 20:80)	-
Dwell time	10–50 ms
Sprühkammerkühlung	3 °C, Peltier-Kühlung
Injektor	2,5 mm
Skimmer und Sampler Cones	Ni
Kollisionszelle (CCT-Modus)	Off Modus

Tabelle 10: ICP-MS Parameter (iCAP-Q) für die Koppelung mit HPLC.

Instrument	Thermo iCAP-Q (Thermo Fisher Scientific)
Plasmaleistung	1550 W
Plasma Gas Fluss	14 L min ⁻¹
Hilfsgas Fluss	0,8 L min ⁻¹
Zerstäubergas Fluss	0,5–0,7 L min ⁻¹
Zusatzgas Fluss (O ₂ /Ar 20:80)	0,4 L min ⁻¹
Dwell time (Gd, Pr)	¹⁵⁸ Gd ⁺ 50 ms, ¹⁴¹ Pr ⁺ 10 ms
Sprühkammerkühlung	-10 °C, Peltier-Kühlung
Injektor	1 mm
Skimmer und Sampler Cones	Pt
Kollisionszelle (CCT-Modus)	0,75–4,6 mL min ⁻¹ He

7.2 Optimierung der Speziesanalytik

7.2.1 Optimierung der Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS

Für die Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS wurde eine Zwitterionische Hydrophile Interaktionschromatographie gewählt, die mit einem ICP-MS über eine PEEK-Kapillare ($d_{\text{innen}} = 0,125$ mm) gekoppelt wurde. Die Kapillare verbindet das HPLC-Säulen-Ende direkt an den konzentrischen Zerstäuber des jeweils verwendeten ICP-MS. Die Parameter und Einstellungen des ICP-MS für die Kopplung sind in Kapitel 7.1 aufgeführt. Die Parameter der ZIC-HILIC (SeQuant GmbH, Deutschland) und ZIC-cHILIC Säule (Merck SeQuant AB, Schweden) sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Zudem wurde für die ZIC-HILIC eine Vorsäule des gleichen Material, mit einer Länge von 20 mm verwendet, die die Hauptsäule gegen Verunreinigung schützen sollte. Für die ZIC-cHILIC wurde ein Vorfilter (Javelin Filter 4mm I.D., Thermo Scientific) verwendet.

Als HPLC-System wurde die *Agilent1100* (Agilent Technologies, Deutschland) mit Mikrovakuumdegaser, Kapillarpumpen, Autosampler und Säulenofen verwendet. Die Säulentemperatur wurde auf 25 °C eingestellt.

Tabelle 11: Kenndaten der HPLC-Säulen.

Kenndaten	ZIC-HILIC	ZIC-cHILIC
Länge	250 mm	250 mm
Innendurchmesser	2,1 mm	0,8 mm
Partikelgröße	3,0 µm	3,0 µm
Porengröße	100 Å	100 Å

7.2.1.1 Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS (ZIC-HILIC)

Die Gd-Speziesanalytik mittels ZIC-HILIC (SeQuant GmbH, Deutschland) erfolgte mit einem isokratischen Eluenten aus Acetonitril, Milli-Q-Wasser und Ammoniumacetat. Für die wässrige Ammoniumacetatlösung wurde eine Stammlösung von 200 mmol L⁻¹ hergestellt und vor der Verwendung über ein Membranfilter (reg. Cellulose, 0.45 µm) filtriert. Das jeweilige Mischungsverhältnis bezieht sich auf Volumen-Prozent. Die pH-Wert-Einstellung erfolgte mit Essigsäure. Anschließend wurde der Eluent filtriert und mittels Ultraschallbad entgast. Für die Gd-Speziation wurde ein Eluent aus 62 : 38 (vol%) Acetonitril : Wasser, mit 20 mmol L⁻¹ Ammoniumacetat, pH = 7,3 verwendet, soweit nicht anders angegeben. Alle Proben wurden vor der Injektion mit 50 vol% Acetonitril gemischt, um eine bessere Trennung zu erzielen. Das Acetonitril in der Probe bewirkt eine schnellere Vermischung mit dem HPLC-Eluenten auf der Säule und führt somit zu schmalere Peaks der Gd-Spezies. Das Injektionsvolumen der Probe beträgt 5 µL. Der isokratische HPLC-Fluss wurde auf 150 µL min⁻¹ eingestellt, soweit nicht anders angegeben.

Die Reinigung der ZIC-HILIC-Säule wurde, wie vom Hersteller (*SeQuant GmbH, Deutschland*) empfohlen, durchgeführt. Die Säule wurde dabei mit jeweils dem 80-fachen des Säulenvolumens mit Milli-Q-Wasser, dann mit 0,5 mol L⁻¹ Natriumchloridlösung und anschließend wieder mit Wasser durchspült. Zur Equilibrierung der Säule wurde eine Mischung aus 80 : 20 (vol%) Acetonitril : Wasser, mit 5 mM Ammoniumacetat verwendet. Das Wasser entfernt polare Verunreinigungen und organische Lösungsmittel. Anschließend werden mit einer Salzlösung die restlichen Verunreinigungen eluiert und mit Wasser nachgespült, um das Salz von der Säule zu eluieren.

Die Gd-Kontrastmittel Standardlösungen wurden aus den Stammlösungen der jeweiligen Gd-Kontrastmittel durch Verdünnung mit Milli-Q-Wasser hergestellt. Die Stammlösungen entsprechen den üblichen Konzentrationen, wie sie für ärztliche MRT-Anwendungen gebraucht werden ($0,5\text{--}1\text{ mol L}^{-1}$). Verwendet wurden die Gd-MRT-Kontrastmittel mit den Handelsnamen: Multihance® (Gd-BOPTA), Magnevist® (Gd-DTPA), Dotarem® (Gd-DOTA), Omniscan® (Gd-DTPA-BMA) und Gadovist® (Gd-BTDO3A).

7.2.1.2 Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS (ZIC-cHILIC)

Für die Gd-Speziesanalytik mittels ZIC-cHILIC (Merck SeQuant AB, Schweden) wurde ein isokratischer Eluent aus Acetonitril, Milli-Q-Wasser und Ammoniumacetat gewählt. Für die wässrige Ammoniumacetatlösung wurde eine Stammlösung von 200 mmol L^{-1} hergestellt und vor der Verwendung über ein Membranfilter (reg. Cellulose, $0,45\text{ }\mu\text{m}$) filtriert. Das jeweilige Mischungsverhältnis bezieht sich auf Volumen-Prozent. Die pH-Wert-Einstellung erfolgte anschließend mit Essigsäure. Der Eluent wurde filtriert und mittels Ultraschallbad entgast.

Für die Gd-Speziation wurde ein Eluent aus 69 : 31 Acetonitril : Wasser, mit 10 mmol L^{-1} Ammoniumacetat, pH = 5,0 verwendet, soweit nicht anders angegeben. Alle Proben wurden vor der Injektion mit Acetonitril gemischt, um eine bessere Trennung zu erzielen. Der Acetonitrilanteil in der Probe beträgt 50 vol%, wobei auch andere Verhältnisse zur Optimierung der Methode verwendet wurden (0 %, 25 %, 50 %, 75 % Acetonitrilanteil). Ebenfalls wurde zur Optimierung ein Anteil von 0,05 % Ammoniak zur Analyseprobe erprobt.

Das Injektionsvolumen der Probe beträgt $5\text{ }\mu\text{L}$. Für Messungen mit sehr niedrigen Konzentrationen, die nahe der Bestimmungsgrenze sind, erfolgte eine Injektion von $10\text{ }\mu\text{L}$ Probenvolumen. Nachteilig an einer Injektion von $10\text{ }\mu\text{L}$ ist eine leicht schlechtere Trennung der Signale im Chromatogramm. Die isokratische HPLC-Fluss Rate wurde auf $150\text{ }\mu\text{L min}^{-1}$ für die optimale Trennungen eingestellt, sowie auf $200\text{ }\mu\text{L min}^{-1}$ im Routinebetrieb um eine Zeitersparnis zu erzielen.

Da die vom Hersteller zur Reinigung der ZIC-cHILIC-Säule vorgeschlagenen Schritte teilweise geringen oder keinen Effekt zeigten, wurde ein neues Verfahren entwickelt. Die Säule wurde dabei zunächst mit dem 40fachen des Säulenvolumens mit Wasser gespült, um organisches Lösungsmittel zu entfernen. Anschließend wurde mit einer wässrigen Lösung

aus $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ Ammoniumacetat gespült, je nach Verunreinigungsgrad meist mit den 80fachen des Säulenvolumens. Anschließend wurde die Säule erneut mit Wasser gespült und mit Eluent beladen. Das Ammoniumacetat bewirkt bei der Reinigung das Eluieren der Metallionen von der Säule. Somit kann der Untergrund z.B. für die Gd-Speziesanalytik stark gesenkt werden, sodass bessere Nachweisgrenzen erreicht werden. Zur Lagerung der ZIC-cHILIC Säule wurde eine Mischung aus 80 : 20 Acetonitril : Wasser mit 5 mmol L^{-1} Ammoniumacetat verwendet.

7.2.2 Optimierung der Speziesanalytik mittel RP-HPLC – UV/VIS

Für die Speziesanalytik von Gd-DTPA und dem freien Komplex DTPA wurde eine Reverse Phase Säule (RP) gewählt, die MOS-1 Hypersil (Thermo Scientific, Bremen, Deutschland). Das Silicamaterial ist hierbei mit C8-Funktionellen Gruppen ausgestattet (non-encapped). Die Parameter der HPLC-Säule sind in *Tabelle 12* aufgelistet.

Tabelle 12: Kenndaten der MOS-1 Hypersil HPLC-Säule.

Name	MOS-1 Hypersil
Länge	125 mm
Innendurchmesser	4,6 mm
Partikelgröße	5,0 μm
Porengröße	120 Å

Als HPLC wurde die *Smartline* (Pumpe 1050, UV Detektor 2600; KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Deutschland) verwendet. Die Injektion der Probe erfolgte manuell über ein 6-Wege-System mit einer $10 \mu\text{L}$ Probenschleife. Das HPLC System ist mit Stahl-Kapillaren ausgestattet. Die Detektion erfolgte über die Absorbance bei 195 nm. Die Integrationszeit der Messung beträgt 0,2 Sekunden mit einer Aufnahmefrequenz von 10 Hz. Für die Analyse von Gd-DTPA und DTPA wurde ein Eluent von 79 : 21 vol% Wasser : Acetonitril, mit $1,37 \text{ g L}^{-1}$ Tetrabutylammoniumperchlorat (TBAPC) verwendet, wenn nicht anders beschrieben. Der Eluent wurde im Ultraschallbad entgast. Die Eluentenflussrate in der HPLC betrug $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Für die Herstellung der Analytlösung wurde das jeweilige Salz, Gd-DTPA bzw. DTPA- H_5 bei einem pH-Wert von 5 in Wasser gelöst. Zur pH-Einstellung wurde Natronlauge verwendet. Die Analyse erfolgte im Bereich von 50 bis $1800 \mu\text{g Gd L}^{-1}$ für beide Spezies. Die jeweilige Probe wurde vor der Analyse in den HPLC-Eluenten gelöst. Das Injektionsvolumen betrug $10 \mu\text{L}$.

Für die Speziesanalytik der negativ geladenen Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-DOTA und Gd-BOPTA im $\mu\text{g L}^{-1}$ bis mg L^{-1} - Bereich wurde ebenfalls die Reverse Phase Säule MOS-1 Hypersil (Thermo Scientific, Bremen, Deutschland) gewählt. Für die Analyse wurde ein Eluenten-Gradient gewählt. Eluent A besteht aus Wasser : Acetonitril (90 : 10 vol%), mit $1,37 \text{ g L}^{-1}$ TBAPC. Eluent B besteht aus Wasser : Acetonitril (2 : 98 vol%) mit $1,37 \text{ g L}^{-1}$ TBAPC. Die Eluenten wurde filtriert und anschließend im Ultraschallbad entgast. Der HPLC-Gradientenverlauf ist in Tabelle 13 aufgelistet. Die Eluentenflussrate betrug $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Die Zeit der Speziesanalytik betrug 10 min, die zusätzliche Equilibrierungszeit bis zur nächsten Messung betrug 5 min.

Tabelle 13: HPLC-Gradient für die Analyse von negativ geladenen Gd-Kontrastmitteln.

Zeit [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0,0	100	0
10,0	75	25
10,1	100	0
15,0	100	0

Eluent A: 90 : 10 vol% Wasser : Acetonitril, mit $1,37 \text{ g TBAPC}$

Eluent B: 2 : 98 vol% Wasser : Acetonitril, mit $1,37 \text{ g TBAPC}$

7.2.3 Interner Standard für Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS

Für die Speziation von Gd-Kontrastmitteln mittels HILIC-ICP-MS wurden zwei interne Standards verwendet, die sich ähnlich der Gd-Kontrastmittel verhalten und somit ähnliche Retentionszeiten auf der HPLC-Säule aufweisen sollten. Dafür wurde sowohl ein DTPA-Komplex mit Samarium, als auch ein DOTA-Komplex mit Praseodym verwendet. Diese Komplexbildner werden jeweils auch in den gängigen Gd-Kontrastmitteln Gd-DOTA und Gd-DTPA verwendet. Samarium und Praseodym gehören wie Gadolinium zu den Seltenen Erden, sodass ein ähnliches Verhalten der jeweiligen Komplexe, gegenüber den Gd-Komplexen, zu erwarten ist.

Pr-DOTA wurde aus äquimolarem Verhältnis von $\text{Pr}(\text{NO}_3)_3$ und DOTA- H_4 in Wasser gelöst. Der pH-Wert wurde auf 10 mit Natronlauge eingestellt um eine bessere Löslichkeit von DOTA- H_4 zu ermöglichen. Nach 24 Stunden wurde der pH-Wert der Lösung auf 7 mit Salpetersäure eingestellt.

Ebenso wurde Sm-DTPA aus äquimolarem Verhältnis von $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$ und DTPA-H_5 in Wasser gelöst. Der pH-Wert wurde auf 10 mit Natronlauge eingestellt um eine bessere Löslichkeit von DTPA-H_5 zu ermöglichen. Nach 24 Stunden wurde der pH-Wert der Lösung auf 7 mit Salpetersäure eingestellt.

Pr-DOTA und Sm-DTPA wurden als interne Standards für die Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln mittels HILIC-ICP-MS (Kapitel 7.2.1.1 und 7.2.1.2) verwendet. Dafür wurde zu der jeweiligen Probe als interner Standard $2\text{ }\mu\text{g Pr L}^{-1}$ Pr-DOTA bzw. $2\text{ }\mu\text{g Sm L}^{-1}$ Sm-DTPA hinzugegeben, soweit nicht anders angegeben. Pr-DOTA und Sm-DOTA wurde im ICP-MS auf $^{141}\text{Pr}^+$ sowie $^{147}\text{Sm}^+$ bestimmt. Der interne Standard wurde verwendet um Intensitätsdriften während der Messung, Änderungen im Probenvolumen und mögliche Matrixeffekte auszugleichen. Zudem wurde der interne Standard auch als Prozeßstandard verwendet, um Analytverluste während der Messung auszugleichen. Die Verwendung eines internen Standards ist in den jeweiligen Kapiteln beschrieben.

7.3 Anreicherungsverfahren für Gd-Kontrastmittel

7.3.1 Anreicherung von Wasserproben mittels Verdampfung

Da Gd-Kontrastmittel in Umweltproben nur in sehr geringen Konzentrationen vorliegen, ist teilweise eine Anreicherung dieser Kontrastmittel notwendig. Eine Möglichkeit der Anreicherung ist das Einengen von Volumen unter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers. Um zu überprüfen, ob es hierbei zu Verlusten, bzw. Abbau oder Dekomplexierung, von Gd-Kontrastmitteln kommt, wurden 10 mL Lösungen aus Gd-Kontrastmitteln mit einer Konzentration von $5\text{ }\mu\text{g Gd L}^{-1}$ um den Faktor 1 : 50 eingengt. Als interner Standard wurden Pr-DOTA ($2\text{ }\mu\text{g Pr L}^{-1}$) vor der Einengung hinzugegeben. Die Einengung der Lösungen erfolgte in 20 mL Teflongefäßen. Die eingengten Lösungen wurden auf 0,5 mL aufgefüllt und anschließend mittels ZIC-cHILIC ICP-MS analysiert und mit der Originalkonzentration vor der Einengung verglichen. Die Anreicherung von Oberflächenwasser wird im Kapitel 7.5.2 behandelt.

7.3.2 Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf SAX

Für die Anreicherung von negativ geladenen Gd-Kontrastmitteln (Gd-DTPA, Gd-BOPTA, Gd-DOTA) wurde ein starkes Anionenaustauscher-Material aus quartärem Ammonium-modifizierten Silicat verwendet (SAX - engl.: strong anion exchange). Eine leere SPE-PP-Säule (5 mL) wurde mit einem Vorfilter versehen (PE, 20 μm) und die Säule mit 0,5 g des SAX-Pulvers gefüllt. Das Säulenmaterial wurde mit 3 mL Wasser und 3 mL Methanol konditioniert und mit 3 mL Wasser gespült. Die Beladung erfolgte mit einer 50 mL Lösung, die je 10 $\mu\text{g Gd L}^{-1}$ der Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-BOPTA und Gd-DOTA enthielt, wenn nicht anders angegeben. Um die Vollständigkeit der Beladung des Säulenmaterials zu überprüfen, wurde die Beladungslösung, die über das Material gegeben wurde, wieder aufgefangen und hinsichtlich der verbliebenen Gd-Kontrastmittel-Konzentrationen analysiert und mit der Ausgangskonzentration verglichen.

Die Säule wurde nach der Beladung mit 3 mL Wasser gespült. Anschließend erfolgte die Elution mit 5 mL aus wässrigem Ammoniak (5 %ig). Hierbei erfolgte die Optimierung der Flussrate zwischen 100 $\mu\text{L min}^{-1}$ und 2 mL min^{-1} . Die Flussrate wurde durch Anlegen eines Unterdrucks, mittels Vakuumpumpe, am Säulenende erzielt. Zur Bestimmung der Beladungs- und Elutionslösungen wurde die Speziesanalytik mittels ZIC-cHILIC ICP-MS sowie ZIC-HILIC ICP-MS gewählt (Kapitel 7.2.1).

Ebenfalls wurde die Anreicherung mit hohen Konzentrationen an Gd-Kontrastmitteln untersucht. Hierfür wurde mit 10 mL Gd-DTPA (5 mg Gd mL^{-1}) beladen. Die Elution erfolgte mit wässrigem Ammoniak (5 %ig). Die Optimierung des Elutionsvolumens erfolgte mit 5–10 mL. Zur Bestimmung der Beladungs- und Elutionslösungen wurde die Speziesanalytik mittels RP-HPLC-UV/VIS gewählt (Kapitel 7.2.2).

7.3.3 Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle

Um diverse Gd-Kontrastmittel (cyclische und lineare, geladen und ungeladen) gleichzeitig anzureichern, wurde Aktivkohle als Beladungs- und Anreicherungsmaterial gewählt. Als Gd-Kontrastmittel wurden Magnevist® (Gd-DTPA), Multihance® (Gd-BOPTA), Dotarem® (Gd-DOTA), Omniscan® (Gd-DTPA-BMA), Gadovist® (Gd-BT-DO3A) verwendet.

Eine leere SPE-PP-Säule (5 mL) wurde mit einem Vorfilter versehen (PE, 20 μm) und die Säule mit 1 g Aktivkohle gefüllt. Das Säulenmaterial wurde mit 5 mL Wasser konditioniert.

Die Beladung erfolgte mit einer Lösung aus je $10\ \mu\text{g L}^{-1}$ Gd pro Gd-Kontrastmittel, wenn nicht anders angegeben. Um die Vollständigkeit der Beladung des Säulenmaterials zu überprüfen, wurde die Beladungslösung, die über das Material gegeben wurde, wieder aufgefangen und hinsichtlich der verbliebenen Gd-Kontrastmittel Konzentrationen analysiert und mit der Ausgangskonzentration verglichen. Die Gd-Speziesanalytik erfolgte mittels ZIC-HILIC-ICP-MS sowie ZIC-cHILIC-ICP-MS (Kapitel 7.2.1).

Um eine bessere Beladung zu erzielen wurde die Aktivkohle (0,5 g) in 50 mL Gd-Kontrastmittellösung, mit je $5\ \mu\text{g Gd L}^{-1}$, gegeben und 20 min geschüttelt. Die Lösung wurde anschließend über ein μm -Filter von der Aktivkohle abgetrennt. Das Filtrat wurde hinsichtlich der verbliebenen Gd-Kontrastmittel mittels ZIC-cHILIC ICP-MS (Kapitel 7.2.1.2) analysiert, um damit auf die Beladung der Aktivkohle zu schließen. Um die Leistungsfähigkeit der Beladung zu überprüfen, wurden verschiedene wässrige Matrices verwendet. Zum einen wurde eine Trinkwasserprobe (Berlin-Adlershof) sowie eine Lösung mit $2\ \text{g L}^{-1}$ und $20\ \text{g L}^{-1}$ Natriumchlorid, mit $5\ \mu\text{g Gd L}^{-1}$ je Gd-Kontrastmittel sowie Pr-DOTA als interner Standard versetzt, um ebenfalls die Beladung zu überprüfen. Die Beladungszeit wurde ebenfalls zwischen 5 und 25 min variiert, um zu überprüfen, ab wann eine vollständige Beladung erfolgt. Ebenfalls erfolgte die Variation der Aktivkohlemenge zwischen 0,05–1,00 g für die Beladung von $10\ \mu\text{g Gd L}^{-1}$ je Gd-Kontrastmittel aus 50 mL Probenvolumen.

Um die Leistungsfähigkeit hinsichtlich des Probenvolumen zu überprüfen, wurde 1 L mit $10\ \mu\text{g Gd L}^{-1}$ je Gd-Kontrastmittel, mit 1 g Aktivkohle versetzt und in regelmäßigen Abständen über einen Zeitraum von 5 min bis 93 h geringe Volumen ($400\ \mu\text{L}$) der Lösung entnommen. Die entnommenen Lösungen wurden mittels μm -Membranfilter ($0,2\ \mu\text{m}$, reg. Cellulose) filtriert. Ein Membranfilter ist notwendig, da das Gd-Kontrastmittel auch an kleinsten Aktivkohlepartikeln bindet. Die filtrierten Lösungen wurden anschließend mittels ZIC-cHILIC ICP-MS (Kapitel 7.2.1.2) hinsichtlich der verbliebenen Gd-Kontrastmittelkonzentrationen in der Beladungslösung analysiert, um damit die Beladung auf dem Aktivkohlematerial zu bestimmen.

Zur Optimierung der Elution von Gd-Kontrastmitteln vom Aktivkohlematerial wurden verschiedene Lösungsmittel verwendet. Salzsäure ($0,1\ \text{mol L}^{-1}$) und die protischen Lösungsmittel Methanol und Ethanol zeigten geringe Elutionswirkung und wurden nicht weiter verwendet. Als geeignetes Lösungsmittel erwies sich wässrige Ammoniaklösung und

Aceton, die als Mischung verwendet wurden. Um eine optimale Elution aller Gd-Kontrastmittel zu erzielen, wurde der Acetonanteil von 10–90 vol% variiert, sowie die Ammoniakkonzentration von 0–10 vol%. Die Elution erfolgte hier jeweils mit 10 mL Eluent. Die Beladung erfolgte auf 1 g körniger Aktivkohle die in die Beladungslösung (50 mL, $10 \mu\text{g Gd L}^{-1}$ je Gd-Kontrastmittel) gegeben wurde. Die Lösung wurde abfiltriert und die Aktivkohle zusammen mit dem Filter und dem Eluenten in einem 50 mL PP-Gefäß ausgeschüttelt. Der Eluent wurde über einen Membranfilter abfiltriert. Anschließend erfolgte die Gd-Kontrastmittelspeziesanalytik mittels ZIC-cHILIC ICP-MS (Kapitel 7.2.1.2). Aus den Ergebnissen wurde als optimaler Eluent das Verhältnis 1 : 1 aus Aceton und wässrigem Ammoniak (5 %ig) gewählt. Um mögliche Analytverluste während der Anreicherung zu überwachen, wurde zur Beladungslösung jeweils Pr-DOTA ($2 \mu\text{g Pr L}^{-1}$) als interner Standard hinzugegeben.

Die Anreicherungs-methode mittels Aktivkohle und die Anreicherung über milde Verdampfung wurde kombiniert. Hierfür wurde 1 g Aktivkohle mit Gd-Kontrastmitteln beladen (50 mL, je $10 \mu\text{g Gd L}^{-1}$ Gd-Kontrastmittel). Die Aktivkohle wurde nach der Beladung über eine PP-Spritze mit Membranfilteraufsatz ($0,2 \mu\text{m}$ reg. Cellulose) abgetrennt und 10 mL Eluent in die PP-Spritze gegeben, in der sich die Aktivkohle befindet. Der filtrierte Eluent wurde aufgefangen und anschließend in ein PFA-Gefäß (25 mL) überführt. Der Eluent wurde unter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers verdampft und so auf ein Volumen von $200 \mu\text{L}$ gebracht. Der eingeeengte Eluent wurde in $200 \mu\text{L}$ (Ammoniak 5%ig : Aceton, 1 : 1 v/v) aufgenommen, filtriert und mittels ZIC-cHILIC ICP-MS analysiert.

Um die Prozeßdauer der Anreicherung zu verringern, wurde der Methodenaufbau verkleinert. So wurde das Beladungsvolumen von 50 mL auf 15 mL reduziert. Die Beladung erfolgte auf 0,1 g Aktivkohlepulver. Die Elution erfolgte mit 2 mL statt mit 10 mL. Die Gd-Speziesanalytik der Anreicherungs-eluate erfolgte spätestens 2 h nach der Elution. Das Elutionsvolumen wurde für diese Methode optimiert, indem zehnmal mit jeweils 0,5 mL von der beladenen Aktivkohle eluiert wurde.

7.3.4 Anreicherung von Oberflächenwasser auf Aktivkohle

Die Spezies konservierende Anreicherungs-methode mittels Aktivkohle für Gd-Kontrastmittel wurde mit belastetem Oberflächenwasser vom Teltowkanal aus Berlin

Adlershof durchgeführt. Das Wasser wurde im November 2014 mit einer PP-Schöpfkelle in Ufernähe entnommen und in eine PP-Flasche überführt. Anschließend erfolgte die Filtration der Proben mit einem 0,45 µm Membranfilter. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei 3 °C.

50 mL der Wasserproben wurden in ein PP-Gefäß überführt, mit Pr-DOTA (200 ng Pr L⁻¹) als interner Standard und anschließend mit 0,5 g Aktivkohlepulver versetzt. Die Suspension wurde 20 min geschüttelt. Anschließend wurde das Aktivkohlepulver über eine PP-Spritze mit Membranfilteraufsatz (0,45 µm, reg. Cellulose) abgetrennt. Die Elution erfolgte mit 2 mL des Eluenten (Aceton : wässriges Ammoniak 5 %ig, 1:1 v/v). Die Gd-Speziesanalyse erfolgte mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS. Um die detektierten Gd-Spezies sowie deren Konzentrationen vergleichen zu können, wurden zudem die Wasserproben ohne vorherige Anreicherung analysiert. Da hierbei kein Gd-Kontrastmittel nachgewiesen werden konnte, wurde 50 mL der Probe durch mildes Verdampfen (vgl. Kapitel 7.3.1) um den Faktor 25 eingeeengt und erneut mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS analysiert.

7.4 Optimierung der Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrizes

7.4.1 Extraktion von Gd-Kontrastmittel aus Umweltmatrizes

Zur Optimierung der spezies-konservierenden Extraktion von Gd-Kontrastmittel wurden 200 mg gefriergetrocknetes Fischfilet (Brasse) in ein 10 mL Glasgefäß überführt und mit dem Kontrastmittel Gd-DTPA (2,5 mL, 50 mg mL⁻¹) gespikt. Weitere Information zum verwendeten Fischfilet finden sich im Kapitel 7.7 („Gd-Kontrastmittel in Fischen“).

Das gespikte Fischmaterial wurde für 24 h im Trockenschrank bei 45 °C getrocknet. Anschließend wurde für die Extraktion der Gd-Kontrastmittel 5 mL Wasser hinzugegeben. Die Extraktion wurde für eine Stunde, wenn nichts anderes angegeben, im Ultraschallbad durchgeführt. Anschließend wurde das Extrakt mittels Membranfilter (0,45 µm, reg. Cellulose) filtriert, mittels RP-HPLC-UV/VIS (Kapitel 7.2.2) analysiert und dabei die jeweilige Wiederfindung (Recovery) der Extraktion bestimmt. Die gleiche Extraktion wurde mit diversem, getrocknetem Pflanzenmaterial, das am Teltowkanal in der Nähe der Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf am Ufer wuchs, durchgeführt. Um den Einfluss der

Extraktionszeit zu untersuchen, wurde die mit Gd-Kontrastmitteln gespiktem Fischfilet zwischen 30–90 min extrahiert und mittels RP-HPLC-UV analysiert (Kapitel 7.2.2).

Um die Extraktionsfähigkeit auch bei niedrigeren Konzentrationen zu überprüfen, wurde Fischmatrix (Fischfilet, Brasse) mit je 50 ng Gd (absolut) Kontrastmittel (Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA und Gd-DTPA) sowie mit dem internen Standard Pr-DOTA (10 ng Pr absolut) gespikt. Das gespikte Fischmaterial wurde getrocknet, mit 5 mL Wasser versetzt und 15 min im Ultraschallbad extrahiert und mittels Membranfilter (0,45 µm, reg. Cellulose) filtriert. Da es zur Ausfällung der im Wasser gelösten Proteine durch Acetonitril (aus dem HPLC-Eluent) kommt, wurde das Filtrat mit 50 vol% Acetonitril gemischt und die Fällung anschließend mittels Membranfilter abgetrennt, bevor die Analyse mittels HPLC durchgeführt wurde.

Für geringere Gd-Kontrastmittelkonzentrationen wurde ebenfalls eine Extraktion aus Pflanzenmatrix durchgeführt. Hierfür wurde 400–500 mg getrocknetes Pflanzenmaterial mit 2,5 µL Pr-DOTA (100 µg Pr L⁻¹) sowie 75 µL Gd-Kontrastmittellösung (je 100 µg Gd L⁻¹ pro Gd-Kontrastmittel) versetzt und getrocknet. Das Pflanzenmaterial wurde anschließend mit 15 mL Wasser versetzt und 1 h extrahiert. Anschließend wurde die Suspension mittels Membranfilter (0,2 µm, reg. Cellulose) filtriert. Das Filtrat wurde mit 50 % Acetonitril versetzt und die Fällung mit einem Membranfilter abfiltriert. Die Lösung wurde mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS analysiert.

7.4.2 Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Modell-Pflanzen

Die folgende Präparation des Pflanzenmaterials wurde schon in meiner Diplomarbeit [217] durchgeführt, die Optimierung der Ultraschallextraktion der Gd-MRT-Kontrastmittel erfolgte jedoch erst in dieser Arbeit.

1 Woche alte *Lepidium Sativum* (Kresse) wurde in einer Nährlösung mit jeweils einem Gd-Kontrastmitteln in einem PFA-Gefäß wachsen gelassen. Dabei bestand die Nährlösung aus jeweils 1 mg Gd L⁻¹ Gd-Kontrastmittel (Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA, Gd-DTPA) im Trinkwasser. Nach der Inkubationszeit von 2 bis 11 Tagen wurde der oberste Zentimeter der Pflanze abgeschnitten und intensiv mit Milli-Q-Wasser gewaschen, um unspezifische Adsorption von Kontrastmitteln auf der Pflanze zu entfernen. Anschließend

erfolgte die Trocknung des Pflanzenmaterials unter leichter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers.

Das Pflanzenmaterial wurde zum einen mittels Hochdruck-Temperatur-Mikrowellen-Aufschluss in Quarzgefäßen aufgeschlossen. Zum anderen erfolgte eine wässrige Ultraschallextraktion. Für den Mikrowellen-Aufschluss wurden 10–20 mg Pflanzenmaterial in einem Quarzgefäß gegeben und mit 4 mL Salpetersäure (65 %, subboiled) und 2 mL Wasserstoffperoxid (30 %) versetzt. Nach einer Vorreaktionszeit von 15 h erfolgte der Mikrowellen-Aufschluss. Das Druck- und Temperaturprofil ist in Tabelle 14 aufgelistet. Der Vordruck wurde auf 50 bar eingestellt.

Tabelle 14: Konditionen für die Mikrowellenextraktion.

Zeitintervall	Temperatur [°C]	Druck [bar]
in 20 min. auf	80	160
10 min.	80	160
in 10 min. auf	150	160
10 min.	150	160
in 20 min. auf	250	170
45 min.	250	170
120 min.	Abkühlen	–

Die klare Lösung wurde mit Hilfe eines Heizblocks (150 °C) auf 1 mL eingeeengt, mit drei mal 2 mL Milli-Q-Wasser in einen 10 mL Quarzkolben überführt und auf 10 mL aufgefüllt. Als interner Standard wurden 20 µg L⁻¹ Thulium verwendet. Anschließend erfolgte eine Filtration der Lösung durch einen Membranfilter (0,45 µm). Die Bestimmung des Gesamtgehalts an Gadolinium wurde mittels ICP-MS durchgeführt. Durch den Vergleich des Gd-Gesamtgehaltes in der Pflanze und der Gd-Gehalt der Gd-Kontrastmittel kann eine Extraktionsausbeute aus der wässrigen Ultraschallextraktion berechnet werden. Für die Ultraschallextraktion wurden 10 mg Pflanzenmaterial in ein PP-Gefäß gegeben und mit 2 mL Wasser versetzt. Die Extraktionsdauer betrug 1 h. Das Pflanzenextrakt wurde mittels Membranfilter (0,45 µm) filtriert und anschließend mittels ZIC-HILIC-ICP-MS (Kapitel 7.2.1.1) hinsichtlich der Gd-Kontrastmittelkonzentrationen analysiert.

7.5 Untersuchung von Oberflächen- und Trinkwasser

7.5.1 Gd Anomalie im Oberflächenwasser und Trinkwasser

Für die Gd Anomaliebestimmung wurden Wasserproben aus dem Teltowkanal in der Nähe der Klärwerkauslasssstelle Stahnsdorf, ca. 700 m flussaufwärts von nördlichen Ufer des Kanals entnommen. Die Wasserproben wurden mit einem Messzylinder entnommen, in PFA-Schraubflaschen abgefüllt und mit 2 vol% Salpetersäure (65 %ig) angesäuert. Anschließend erfolgte die Filtration der Proben mit einem 0,45 µm Membranfilter. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei 3 °C. Die Wasserproben wurden im Mai 2011 entnommen.

Die Trinkwasserproben wurden aus einem Wasserhahn in Salzufer-Berlin entnommen. Die Probenahmen erfolgten im September 2013. Die Wasserleitung wurde eine Minute gespült, bevor die Proben entnommen wurden. Die Wasserproben wurden in PP-Gefäßen im Kühlschrank bei 3 °C gelagert.

Vor der Analyse wurden die Wasserproben filtriert und mit 2 µg L⁻¹ Indium (¹¹⁵In⁺) als interner Standard gespiked, sowie mit 2 vol% Salpetersäure angesäuert. Zur Bestimmung der Gd-Anomalie wurden die Isotope der Seltenen Erdelemente (¹³⁹La⁺, ¹⁴⁰Ce⁺, ¹⁴¹Pr⁺, ¹⁴⁶Nd⁺, ¹⁴⁷Sm⁺, ¹⁵⁸Gd⁺, ¹⁵⁹Tb⁺, ¹⁶³Dy⁺, ¹⁶⁵Ho⁺, ¹⁶⁶Er⁺, ¹⁷²Yb⁺, ¹⁷⁵Lu⁺) in den Wasserproben mittels ICP-MS analysiert. Die Oberflächenwasserproben wurden mittels Agilent7500cs ICP-MS und die Trinkwasserproben mittels iCAP-Q ICP-MS analysiert. Details zu den verwendeten ICP-MS Geräten sind im Kapitel 7.1 beschrieben.

7.5.2 Gadolinium und Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser

Die Probenahme von Wasserproben aus dem Oberflächenwasser erfolgt jeweils am südlichen Ufer des Teltowkanals in der Nähe der Auslasssstelle des Klärwerks Stahnsdorf (bei Berlin). Die Wasserproben wurden zwei Meter vom Ufer entfernt, mit einem PP-Gefäß an einer Teleskopstange aus dem Teltowkanal entnommen. Die Probenahme begann 500 m flussaufwärts und endete 5000 m flussabwärts von der Klärwerkauslasssstelle entfernt. Die Wasserproben wurden innerhalb von zwei Stunden an zehn Orten entnommen.

Das Wasser wurde in PP-Flaschen abgefüllt und luftdicht verschlossen. Anschließend erfolgte die Filtration der Proben mit einem 0,45 µm Membranfilter. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei 3 °C. Die Wasserproben wurden im Oktober 2011 entnommen.

Für die Gd-Kontrastmittel Speziesanalytik wurden jeweils 50 mL der Wasserproben unter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers Verdampfung um den Faktor 1 : 20 in offenen Teflongefäßen eingeengt. Die eingeengten Proben wurden filtriert und anschließend mittels ZIC-HILIC ICP-MS analysiert (Kapitel 7.2.1.1).

Die Analyse der Gd-Gesamt-Konzentrationen im Oberflächenwasser wurde mittels ICP-MS durchgeführt. Dafür wurden die Proben mit 2 vol% Salpetersäure angesäuert und mit $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Thulium als internen Standard gespiked. Die Gadoliniumkonzentration wurde über $^{158}\text{Gd}^+$ sowie die Thuliumkonzentration über $^{169}\text{Tm}^+$ bestimmt. Details zum verwendeten ICP-MS (Agilent7500cs) sind im Kapitel 7.1 beschrieben.

7.5.3 Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser

Zur Analyse von Gd-Kontrastmitteln im Trinkwasser wurden die Proben direkt aus den Wasserhähnen der Endbenutzer entnommen, anstatt aus Tiefbrunnen, um den direkten Eintrag von Gd-Kontrastmittel in die urbane Nahrungskette zu untersuchen, weil ein Abbau durch Transmetallierung durch die Trinkwasserrohrleitung nicht ausgeschlossen werden konnte. Die Probenahme erfolgte in verschiedenen Teilen von Berlin und Umland (Westend, Salzufer, Steglitz, Adlershof, Kreuzberg/Neukölln, Lichtenberg, Köpenick, Karlshorst, Oranienburg, Hohenschönhausen, Altglienicke und Waltersdorf). Die Proben wurden an zufälligen Tagen zwischen September 2013 und Juli 2014 entnommen und in PP-Gefäßen bei 3 °C im Kühlschrank gelagert. Auf eine Ansäuerung der Proben wurde verzichtet, wegen der geringen Stabilität der Gd-MRT-Kontrastmittel im sauren Milieu. Dies ist sowohl durch die eigenen Beobachtungen als auch durch andere Studien gestützt [107,106].

Die Proben wurden vor der Gd-Speziesanalytik mittels ZIC-cHILIC ICP-MS (Kapitel 7.2.1.2), über ein Membranfilter filtriert. Die Injektion erfolgte mit 10 μL , statt den üblichen 5 μL , wodurch eine bessere Nachweis- und Bestimmungsgrenze erzielt wird. Als Nachteil des höheren Injektionsvolumens ist eine geringfügige Verschlechterung der Signaltrennung zu beobachten. Vor jeder Analyse wurde die Säule gereinigt (vgl. Kapitel 7.2.1.2), um den Gd-Untergrund zu minimieren und somit bessere Bestimmungsgrenzen zu erzielen.

Um sicherzustellen, dass es sich bei den gefundenen Gd-Spezies um Gd-Kontrastmittel handelt, wurde die Proben sowohl ohne als auch mit internen Standard (Pr-DOTA, 200 ng Pr L⁻¹) gemessen, um Einflüsse des internen Standards auszuschließen. Zudem wurde sowohl eine Konzentrationsbestimmung mittels Kalibrierung, auf Basis von wässrigen Gd-Kontrastmittel Standardlösungen, als auch über Standard-Addition durchgeführt.

Die Bestimmung der Gd-Gesamt-Konzentration erfolgt mittels ICP-MS (Kapitel 7.1). Hier wurden 10 mL der Trinkwasserprobe mit 2 µg L⁻¹ In als interner Standard sowie mit 2 vol% Salpetersäure (65 %ig) angesäuert und über ein Membranfilter filtriert.

7.6 Gd-Kontrastmittel in Pflanzen

Für die Extraktion von Gd-Kontrastmittel aus Pflanzen in Klärwerkumgebung wurden Pflanzen in unmittelbarer Nähe zur Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf (10–30 m Entfernung flussabwärts) am Ufer des Teltowkanals entnommen. Zudem wurde an den Entnahmestellen der Pflanzen zusätzlich Wasserproben in Ufernähe entnommen. Die Wasserproben wurden in PP-Gefäßen im Kühlschrank bei 3 °C gelagert.

Die Pflanzenproben (0,7–3 g) wurden mechanisch zerkleinert und unter leichter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers getrocknet. Zu den getrockneten Pflanzenproben wurde 2,5–10 mL einer wässrigen Lösung mit 1 µg Pr L⁻¹ Pr-DOTA (als interner Standard) hinzugegeben. Die Extraktion erfolgte für 1 h im Ultraschallbad. Die Suspension wurde mit einem Membranfilter (0,45 µm, reg. Cellulose) filtriert. Anschließend wurden 200 µL des Filtrates mit 50 % Acetonitril versetzt. Die Fällung wurde mit einem Membranfilter abgetrennt. Das Filtrat wurde mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS (Kapitel 7.2.1.2) analysiert.

Einige Pflanzenextrakte wurden zusätzlich unter leichter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers um den Faktor 5–25 eingeengt. Das eingeengte Pflanzenextrakt wurde mit 50 vol% Acetonitril versetzt. Die Protein-Fällung wurde mit einem Membranfilter abgetrennt. Proben bei denen sich durch das Hinzufügen von Acetonitril zwei Phasen ausgebildet hatten, wurden verworfen. Die Analyse der Filtrate erfolgte mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS (Kapitel 7.2.1.2).

Für die Bestimmung der Seltenen Erden im Pflanzenmaterial wurden 200 mg getrocknetes Pflanzenmaterial in einem Quarzgefäß gegeben und mit 4 mL Salpetersäure (65 %, subboiled) und 2 mL Wasserstoffperoxid (30 %) versetzt. Nach einer Vorreaktionszeit von

15 h erfolgte der Mikrowellen-Aufschluss. Das Druck- und Temperaturprogramm ist in Tabelle 14 (Kapitel 7.4.2) aufgelistet. Der Aufschluss wurde auf 50 mL aufgefüllt und mit $100 \mu\text{g L}^{-1}$ In als interner Standard versetzt und mittels ICP-MS (Kapitel 7.1) analysiert.

7.7 Gd-Kontrastmittel in Fischen

Da ein Eintrag von Gd-Kontrastmitteln in Oberflächengewässer nachgewiesen wurde, ist von Interesse, ob Fische in kontaminierten Gewässern eine Gd-Anomalie aufweisen. Hierfür wurden zwei Fische der Gattung *Abramis brama* (Brasse) aus dem Teltowkanal, 700 m flussabwärts von der Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf entfernt, mit einer üblichen Angelrute entnommen. Die Fische hatten ein Gewicht von 200 bzw. 750 g und eine Länge von ca. 20 bzw. 40 cm. Die Fische wurden zur Zwischenlagerung bei -20°C gefroren. Zur weiteren Aufarbeitung wurden die Fische im angetauten Zustand in Filet, Haut, Schuppen, Gräten sowie Innereien zerlegt und anschließend 5 Tage lang gefriergetrocknet. Die Proben wurden mittels Zentrifugenmühle unter Stickstoffkühlung gemahlen. Anschließend erfolgte der Mikrowellen-Aufschluss, wie in Kapitel 7.6 beschrieben, für die Gesamtelementbestimmung.

Für die Gd-Speziesanalytik wurden jeweils 100–300 mg gefriergetrocknetes Fischmaterial (Filet, Haut, Schuppen, Innereien) mit 2 mL Wasser mit 100 ng Pr L^{-1} Pr-DOTA als interner Standard versetzt und im Ultraschallbad für 60 min extrahiert. Die Extrakte wurden mit 50 vol% Acetonitril versetzt und die Fällungen mit einem Membranfilter ($0,45 \mu\text{m}$ reg. Cellulose) abfiltriert. Das Filtrat wurde mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS analysiert (Kapitel 7.2.1.2).

7.8 Chemikalien und Geräte

7.8.1 Verwendete Chemikalien

Gadovist (Gd-BTDO3A, $1,0 \text{ mol L}^{-1}$) Bayer Schering Pharma AG (Berlin, Deutschland).

Magnevist (Gd-DTPA, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) Bayer Schering Pharma AG (Berlin, Deutschland).

Omniscan (Gd-DTPA-BMA, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) GE Healthcare Buchler (Braunschweig, Deutschland).

Dotarem (Gd-DOTA, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) Guerbet (Sulzbach, Deutschland).

Multihance (Gd-BOPTA, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) Nycomed GmbH (Konstanz, Deutschland).

Gd₂O₃, Tm₂O₃, Ho₂O₃ (je 1 g L⁻¹) in 2–3 % suprapure HNO₃, CertiPUR, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Salpetersäure (65 %ig), pro analysis, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland), subboiled.

Salzsäure (37 %ig, rauchend), pro analysis, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Salzsäure (30 %ig), suprapur, Merck Millipore (Darmstadt, Deutschland).

Essigsäure (100 %ig), pro analysis, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Acetonitril, Ultra Gradient HPLC Grade, J. T. Baker (Deventer, Holland).

Acetonitril, HPLC grade, Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)

Methanol, Ultra Gradient HPLC Grade, J. T. Baker (Deventer, Holland).

Ammoniumacetate, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Natriumchlorid, pro analysis, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Wasserstoffperoxid (30 %ig), suprapur, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Gadopentetsäure (H₂[Gd-DTPA]xH₂O), Reinheit 97 %, Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland).

Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA-H₅), Reinheit >99 %, Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland).

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure (DOTA), Reinheit 98 %, abcr GmbH + Co KG (Karlsruhe, Deutschland).

Tetrabutylammoniumperchlorat (TBAPC), Reinheit 99 %, Acros Organics (Geel, Belgien).

MilliQ-Wasser (18 MΩ deionisiertes Wasser, 0,22 µm Millipak 40 Filter, Millipore, Molsheim, Frankreich).

Natriumhydroxid (1 mol L⁻¹) biograde, ApplyChem GmbH (Darmstadt, Deutschland).

Ammoniumacetate, Reinheit 98 %, Merck Millipore (Darmstadt, Deutschland).

Praseodym-(III)-Nitrat Hexahydrat, Reinheit 99,9 %, Sigma Aldrich (Steinheim, Deutschland).

Samarium-(III)-Nitrat Hexahydrat, Reinheit 99,9 %, Sigma Aldrich (Steinheim, Deutschland).

Aktivkohle gekörnt etwa 1,5mm, reinst, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

Multielements RareEarth & Geo Elements, Spectec GmbH (Erding, Deutschland).

Chromabond Sorbanz SB (Quaternary ammonium modified silica anion exchanger for SPE – SAX), Macherey-Nagel (Düren, Deutschland).

Ammoniaklösung (25 % in Wasser), zur Analyse, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland).

7.8.2 Verwendete Geräte

Knauer HPLC Smartline (Pumpe 1050, Smartline UV Detektor 2600; KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Deutschland)

Agilent HPLC 1100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland)

Agilent ICP-MS 7500cs (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland)

Thermo ICP-MS iCAP-Q (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Deutschland)

Hochdruck-Temperatur-Mikrowellenaufschluss, Ultraclave III (MLS GmbH, Sorisole, Italien)

Ultraschallbad Sonorex Digital 10p, Typ DK 102P, Bandelin electronic (Berlin, Deutschland)

7.9 Verwendete Software

Agilent Masshunter Workstation (ICP-MS und HPLC Software; Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland)

Chemstation (HPLC Software; Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland)

Qtegra (ICP-MS Software; Thermo Fisher Scientific, Bremen, Deutschland)

Clarity Chrom (HPLC-Software; KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Deutschland)

Microsoft Office 2003, 2007 und 2010

Origin 7.5/8.6/9.0G

Endnote X5/X7

8 Ergebnisse (Methodenentwicklung und Optimierung)

8.1 Einleitung der Ergebnisse

In dieser Arbeit sollen Gd-Kontrastmittel in der Biosphäre detektiert und quantifiziert werden, um den Verbleib dieser Kontrastmittel in der Umwelt aufzuklären. Diesbezüglich ist der Ergebnissteil in zwei Kapitel unterteilt. Zunächst wird die Methodenentwicklung und Methodenoptimierung vorgestellt. Anschließend erfolgt die Analyse von umweltrelevanten Proben im Anwendungsteil (Kapitel 9).

Die Methodenentwicklung und Optimierung umfasst die Elementbestimmung mittels ICP-MS, sodass sowohl eine Quantifizierung von Gadolinium, als auch von weiteren Seltenen Erden durchgeführt werden kann. Durch die Bestimmung des Gesamtgehalts an Gadolinium, kann ein Überblick gewonnen werden, wo potentielle Gd-Kontrastmittel in der Biosphäre zu finden sind. Dabei ist es von Nutzen mittels Konzentrationsbestimmung der Seltenen Erden eine Gadoliniumanomalie aufzuklären. Der zweite Teil der Methodenentwicklung und Optimierung umfasst die Gd-Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS und dient zur Identifizierung der jeweiligen Gd-Spezies in Umweltproben. Zur Speziation von Gd-Kontrastmitteln werden drei Methoden zur Trennung von Gd-Kontrastmitteln vorgestellt. Ein weiterer Teil der Methodenentwicklung und Optimierung umfasst die Extraktion von Gd-Kontrastmittels aus Umweltmatrizes, wie z.B. Pflanzen- und Fischproben, als auch die Anwendung von verschiedenen Anreicherungsmethoden zur Probenvorbereitung für die weitere Gd-Speziesanalytik mittels ICP-MS.

8.2 Optimierung ICP-MS

8.2.1 Allgemeine Einleitung

Das Kapitel der Optimierung der ICP-MS umfasst zum Einen die Multielement Analytik von Seltenen Erden, insbesondere von Gadolinium. Dies ist wichtig, für die Quantifizierung von Gadolinium in der Umwelt, sowie zur Bestimmung von Gd-Anomalien. Zum Anderen erfolgt eine Optimierung der Speziesanalytik mittels HPLC gekoppelt mit ICP-MS. Ein quantitativer Vergleich von Gd-Kontrastmittel-Spezies und der Gesamtkonzentration an Gadolinium, gibt bereits Hinweise über den Verbleib und Abbau der Gd-Kontrastmittel.

8.2.2 Multielement Analytik mittels ICP-MS

Wie bereits geschildert, zeichnet sich die ICP-MS durch eine hohe Empfindlichkeit aus, insbesondere für die meisten Metalle, sodass die ICP-MS für die Spuren- und Ultraspurenanalytik alternativlos ist. Da Gadolinium in der Umwelt nur in geringen Spuren vorkommt, ist die ICP-MS die erste Wahl zur quantitativen Bestimmung von Gadolinium und anderen Seltenen Erden.

Die Bestimmung von Gadolinium erfolgte auf dem Masse-zu-Ladung-Verhältnis von $^{158}\text{Gd}^+$. Zudem wurden für die Bestimmung der Gd-Anomalie in umweltrelevanten Proben weitere Isotopen der Seltene Erden gemessen ($^{139}\text{La}^+$, $^{140}\text{Ce}^+$, $^{141}\text{Pr}^+$, $^{146}\text{Nd}^+$, $^{147}\text{Sm}^+$, $^{153}\text{Eu}^+$, $^{159}\text{Tb}^+$, $^{163}\text{Dy}^+$, $^{165}\text{Ho}^+$, $^{166}\text{Er}^+$, $^{169}\text{Tm}^+$, $^{172}\text{Yb}^+$, $^{175}\text{Lu}^+$). Mit der täglichen Optimierung der ICP-MS Parameter wurden jeweils die besten Nachweisgrenzen eingestellt, unter der Beachtung einer möglichst geringen Oxidrate. Zur Optimierung der Geräteparameter wurde die kommerzielle Optimierungslösung (Thermo Fisher Scientific, Tune B für iCAP-Q; diverse Elemente je $1\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$) verwendet. Die Oxidrate wurde über das Verhältnis von ^{140}Ce zu gebildeten ^{156}CeO bestimmt und lag meist unter 1,5 %. Für optimale Nachweisgrenzen der Seltenen Erden wurde ebenfalls Ce verwendet und auf maximale Intensität optimiert, unter Beachtung der Oxidrate und des Untergrundes, der auf $^{158}\text{Gd}^+$ bestimmt wurde. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen lagen je nach Element zwischen $0,1\text{--}0,6\text{ ng L}^{-1}$ bzw. $0,3\text{--}2,2\text{ ng L}^{-1}$. Details zu den ICP-MS Parametern sind im Experimentellen Teil (Kapitel 7.1) zusammengestellt.

8.2.3 HPLC - ICP-MS Kopplung

Bei der Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS sind einige Punkte zu beachten und zu diskutieren, insbesondere dann, wenn wie in dieser Arbeit der HPLC Eluent zum großen Teil aus dem organischen Lösungsmittel Acetonitril besteht. Acetonitril neigt im Plasma zur Rußbildung, der sich u.a. auf der Fackel, und den Cones des ICP-MS ablagert und somit die Messung stark beeinträchtigt. Diesbezüglich wurde bei allen Messungen mittels HPLC-ICP-MS ein Argon-Sauerstoffgemisch dem Plasma beigelegt. Der Sauerstoff bewirkt die Verbrennung des organischen Materials zu Kohlenoxidspezies und verhindert somit eine Rußbildung. Die zusätzliche Sauerstoffzufuhr muss genau eingestellt werden. Mit Erhöhung des Sauerstoffgehaltes steigt das Risiko von möglichen Interferenzen und zusätzlich wird

ein Verlust der Element-Intensität beobachtet. Ein Mangel an Sauerstoff muss nicht sofort sichtbar sein. So können sichtbare Rußablagerungen auch später nach einigen Stunden auftreten. Um eine Oxidation der gängigen Nickel-Cones zu vermeiden, muss stattdessen auf Platin-Cones zurückgegriffen werden.

Bei hohem Eintrag von organischem Material ins Plasma kann ein Injektorrohr mit einem Durchmesser von 2,5 mm zu instabilen Signalen führen. Ein stabiles, kontinuierliches Messen ist daher nicht gewährleistet, sodass ein Injektorrohr mit 1 mm Durchmesser gewählt wurde, auch wenn dadurch Intensitätsverluste von ca. 20 %, festzustellen sind. Für eine starke Belastung des Plasmas durch den organischen HPLC-Eluenten wurde eine Plasmaleistung von 1500–1550 W verwendet. Die Sprühkammer wurde auf 3 bzw. -10 °C (Agilent 7500cs, bzw. iCAP-Q) herunter gekühlt, um die Lösungsmittelbelastung im Plasma, durch Kondensation der Lösungsmitteldämpfe, zu reduzieren.

In dieser Arbeit wurden wie bereits geschildert zwei ICP-MS Geräte verwendet. Zum einen ein „Agilent 7500cs“, das unter den Parametereinstellung betrieben wurde, wie sie bereits von *Raju et al.* [140] beschrieben wurden. Das zweite ICP-MS Gerät ist ein neues „Thermo Fisher Scientific iCAP-Q“. Hierbei musste eine vollständig neue Optimierung aller Parameter durchgeführt werden, um stabile Messbedingungen zu erzielen und ein gutes Signal-zu-Rauschverhältnis in der Gd-Speziesanalytik mittels HILIC-ICP-MS zu erzielen. Die Verwendung der Kollisionszelle führte zu einer erheblichen Senkung des unspezifischen Untergrundes auch für Gadolinium. Hierbei wurde He als Kollisionsgas verwendet. Um möglichst genau die Bedingungen der HPLC-ICP-MS beim Optimieren der Messparameter darzustellen, wurde die kommerzielle Multielementlösung (Tune B für iCAP-Q, diverse Elemente je 1 µg L⁻¹, Thermo Fisher Scientific) mit dem HPLC-Eluenten 1 : 9 v/v gemischt. Über die Peristaltikpumpe gelangt diese Lösung ins ICP-MS mit einer Flussrate von 200 µL min⁻¹. Dies entspricht der Flussrate der HPLC während der Messung. Die Optimierung der Parameter erfolgte auf der m/z von ¹⁴⁰Ce, da es sehr gut das Verhalten von Gadolinium widerspiegelt. Auf ein direktes Tuning auf der m/z von Gadolinium wurde auf Grund von möglichen Kontaminationsgefahren und Memoryeffekten verzichtet. Um ein besseres Signal-zu-Rauschverhältnis zu erzielen, wurde das Totvolumen zwischen HPLC und ICP-MS reduziert. Hierfür wurde der Säulenausgang über eine volumenarme PEEK-Kapillare (0,125 mm Durchmesser) direkt an den Zerstäuber über ein Totvolumen „freies“ Verbindungsstück angeschlossen.

8.3 Optimierung und Aufbau der Speziesanalytik

8.3.1 Allgemeine Einleitung

In diesem Kapitel werden verschiedene Methoden zur Speziesanalytik für die Gd-Kontrastmittel vorgestellt und optimiert. Das umfasst zwei Trennungen der Spezies für die Spurenanalytik (ngL^{-1} – μgL^{-1}) mittels HILIC-Säule die an eine ICP-MS gekoppelt ist. Für höhere Konzentrationen (mgL^{-1} – gL^{-1}) wurde eine RP-Säule verwendet und die Detektion erfolgte hier mittels UV/VIS-Detektor.

Als Ausgangspunkt für die Gd-Spezies-Spurenanalytik wurde die ZIC-HILIC Säule verwendet. Im späteren Verlauf der Arbeit stand das neue Säulenmaterial ZIC-*c*HILIC zur Verfügung. Für die ZIC-*c*HILIC – ICP-MS Methode wurde anschließend ein interner Standard etabliert, um Intensitätsdrifts des ICP-MS, als auch Matrix- oder Temperatureinfluss sowie Retentionszeitverschiebungen auszugleichen.

8.3.2 Optimierung und Aufbau der Speziesanalytik mittels ZIC-HILIC-ICP-MS

Für die Speziesanalytik der Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-DTPA, Gd-DOTA Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A wurde eine HPLC mit einem ICP-MS gekoppelt. Als HPLC Säule wurde eine Hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) verwendet, die einen Zwitterionencharakter besitzt (ZIC-HILIC). Die stationäre Phase besteht aus Silica-Material, das mit Sulfoalkylbetain beschichtet und damit gut geeignet ist, um hydrophile, polare Substanzen wie die Gd-MRT-Kontrastmittel chromatographisch zu trennen.

Als Eluent wurde eine Mischung aus Acetonitril, Wasser und Ammoniumacetat gewählt. Hierbei wirkt sich eine Erhöhung des Acetonitril-Anteils am stärksten auf die Retentionszeit aus. Die Ammoniumacetatkonzentration im Eluenten wirkt sich hingegen sehr spezifisch auf die Retentionszeiten der geladenen Gd-Komplexe Gd-DTPA, Gd-DOTA und Gd-BOPTA aus. So bewirkt eine Erhöhung der Ammoniumacetatkonzentration im Eluenten eine Erhöhung der Retentionszeiten der Gd-Kontrastmittel auf der ZIC-HILIC Säule. Der Effekt auf die ungeladenen Kontrastmittel Gd-BT-DO3A und Gd-DTPA-BMA ist schwächer ausgeprägt und zwar im Vergleich zu den geladenen Gd-Kontrastmitteln. So erhöht sich die Retentionszeit des zweifach geladenen Gd-Kontrastmittels Gd-DTPA von 12 auf 15 min und die des einfach

geladene Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA von 14 auf 16 min bei einer Erhöhung der Ammoniumacetatkonzentration von 10 auf 15 mM (70 : 30 v/v Acetonitril : Wasser) im Eluenten (Abbildung 8). Wird die Ammoniumacetatkonzentration weiter abgesenkt, so ist bei Gd-DOTA ein Doppelpeak bzw. Peaksplitting zu beobachten. Die Ursache hierfür kann z.B. bedingt sein durch konkurrierende Ionenpaar-Mechanismen, oder durch die Bildung neutraler oder positivgeladenen Intermediate der Gd-Komplexe. Dieser Doppelpeak führt somit zu einer ungewollten Peakverbreiterung von Gd-DOTA. Um eine Basislinientrennung der fünf Gd-Kontrastmittel ohne Peaksplitting zu erzielen, wurde deshalb in weiteren Arbeiten ein neues Säulenmaterial verwendet. Die Speziesanalytik auf dem neuem ZIC-cHILIC Material wird im nächsten Kapitel behandelt.

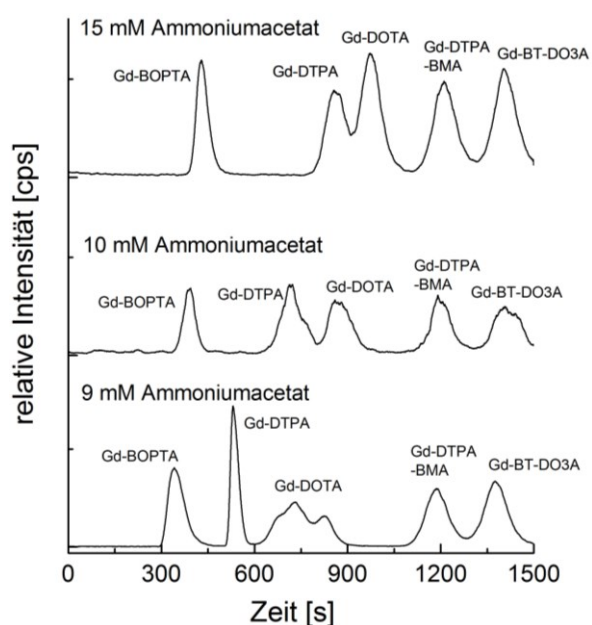


Abbildung 8: Optimierung des Eluenten für die Gd-Speziation mittels ZIC-HILIC durch die Variation des Ammoniumacetatanteils im Eluenten.

Um generell eine Verbesserung der Peakbreiten und somit eine Verbesserung der Trennung der Gd-Kontrastmittel zu erzielen, wurde eine Optimierung der Kopplung von HPLC und ICP-MS durchgeführt. Dies sollte vor allem durch eine totvolumenärmere Kopplung zwischen HPLC und ICP-MS realisiert werden. Zunächst wurde die Verbindung von der HPLC zum Zerstäuber des ICP-MS auf ein Minimum verkürzt und eine PEEK-Kapillare mit geringem Innendurchmesser (0,125 mm) gewählt, sodass die Peakbreiten verringert wurden, vor allem das Gd-DTPA-Signal im Chromatogramm wurde um 65 % schmaler (bzgl.

Peakbreite auf halber Höhe) (Tabelle 15). Durch die schmalere Signale wurde zusätzlich auch der Doppelpeak von Gd-DOTA sichtbar, der vorher nur bei einer Senkung der Ammoniumacetatkonzentration im Eluenten hervortrat.

Zur Optimierung wurde des Weiteren ein kürzeres, totvolumenärmeres Verbindungsstück zwischen Vorsäule und Säule gewählt. Als Effekt ließ sich beobachten, dass alle Retentionszeiten um ca. 10 Sekunden verringert wurden. Die Verbindung zwischen HPLC und ICP-MS, die vorher über ein T-Stück realisiert wurde, wurde durch eine totvolumenarme Direktanbindung der HPLC-Säule mit dem Zerstäuber realisiert. Dies verkürzte alle Retentionszeiten um ca. 30 Sekunden. Zudem verringerten sich erheblich die Peakbreiten (Tabelle 15). Den größten Einfluss hatte die Änderung bei Gd-DTPA, hier wurde die Peakbreite auf halber Höhe (bei einer Konzentration von $5 \mu\text{g Gd L}^{-1}$ Gd-Kontrastmittel) von 26,4 auf 8,5 Sekunden erheblich reduziert.

Tabelle 15: Veränderung der Peakbreiten (auf halber Höhe) der Gd-Kontrastmittel durch Optimierung der HPLC-ICP-MS Kopplung.

Gd-Kontrastmittel	Ursprüngliche Peakbreite [s]	Totvolumenärmere Kopplung HPCL-ICP-MS [s]	Beimischung von 50 % Acetonitril zur Probe [s]
Gd-BOPTA	43	35	20
Gd-DTPA	74	9	10
Gd-DTPA-BMA	63	48	41
Gd-BT-DO3A	64	48	40

Wird der Gd-Kontrastmittel-Standard-Lösung Acetonitril (50 vol%) beigelegt, so wird eine weitere Verringerung der Peakbreite erzielt (Tabelle 15), im Vergleich zu 100 vol% Wasser in der Gd-Kontrastmittel-Probe (Abbildung 9). Zudem verändern sich die Retentionszeiten und das Verhältnis der Intensität beider Gd-DOTA-Signale zueinander leicht. Ein weiterer Vorteil von Acetonitril in der Probe ist, dass u.a. Proteine aus Umweltproben ausgefällt und abfiltriert werden können. So wird eine Ausfällung auf der Säule schon vorher vermieden. Daher wird in allen weiteren Messungen die jeweilige Probe vor der Messungen mit 50 vol% Acetonitril versetzt.

Die Optimierung der HPLC und ICP-MS in Bezug auf Totvolumenminimierung brachte eine Verringerung der Peakbreiten auf halber Höhe um 35 bis 85 %, zudem wurde die Retentionszeit der einzelnen Peaks um ca. 30 Sekunden verkürzt.

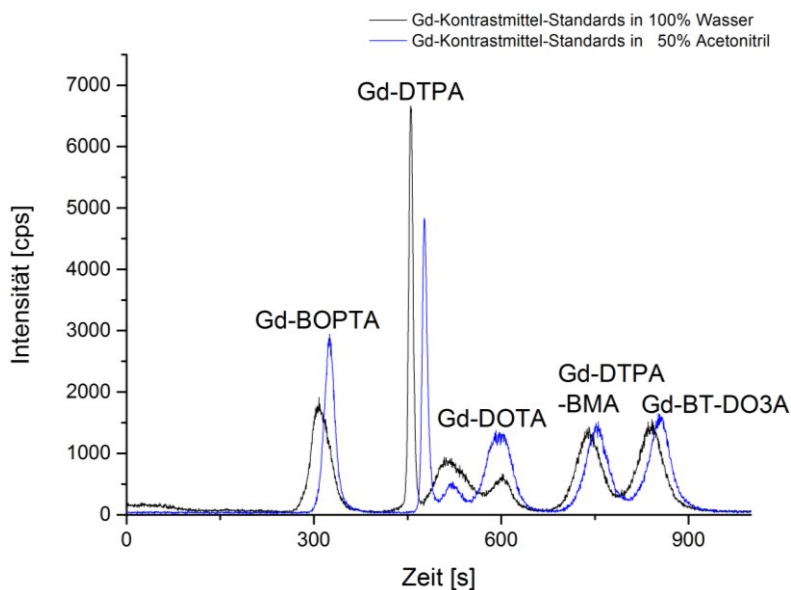


Abbildung 9: Vergleich von Gd-Kontrastmittel-Standards in wässriger Matrix (schwarz) sowie in 50 % Acetonitril (blau). Eluent: 65:35 Acetonitril : Wasser mit 20 mM Ammoniumacetat.

Für jedes Gd-Kontrastmittel wurden die analytischen Kenngrößen durch die Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 0–50 $\mu\text{g Gd L}^{-1}$ bestimmt. Eine lineare Kalibrierkurve mit sieben Messpunkten wurde im Bereich von 0,5 bis 50 $\mu\text{g Gd L}^{-1}$ für alle Gd-Spezies durchgeführt. Die Korrelationskoeffizienten (R^2) sind für jedes Gd-Kontrastmittel größer 0,99. Alle Gd-Spezies wurden über das ^{158}Gd Isotop bestimmt. Die Nachweisgrenze (LOD) und die Bestimmungsgrenze (LOQ) wurden über die 3 σ und 10 σ Kriterien im Integrationsbereich für jedes Gd-Kontrastmittel bestimmt (DIN 32645, 2008). Die LODs und LOQs für die Gd-Kontrastmittel liegen im Bereich von 40–63 ng Gd L^{-1} und 119–190 ng Gd L^{-1} (Tabelle 16). Das HPLC-Injektionsvolumen bei dieser Methode beträgt 5 μL . Für Umweltproben, bei denen diese Nachweisgrenzen nicht ausreichend waren, wurde ggf. eine Einengung des Probenvolumens unter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers durchgeführt. Es wurde ein moderater Anreicherungsfaktor von 1 : 20 gewählt. Dies verbessert die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen auf 2–3 ng Gd L^{-1} bzw. 6–9 ng Gd L^{-1} (Tabelle 16), erhöht aber den Matrixgehalt der Probe entsprechend.

Tabelle 16: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (LOD und LOQ) für die ZIC-HILIC - ICP-MS Methode.

Gd Kontrastmittel	LOD [ng Gd L ⁻¹]	LOD [ng Gd L ⁻¹] mit Anreicherung	LOQ [ng Gd L ⁻¹]	LOQ [ng Gd L ⁻¹] mit Anreicherung
Gd-BOPTA	63	3	190	9
Gd-DTPA	40	2	119	6
Gd-DOTA	48	2	144	7
Gd-DTPA-BMA	41	2	124	6
Gd-BT-DO3A	62	3	186	9

8.3.3 Optimierung und Aufbau der Speziesanalytik ZIC-cHILIC-ICP-MS

8.3.3.1 Einleitung

Ein neues Säulenmaterial der *ZIC-HILIC* Klasse wurde hinsichtlich der Speziesanalytik von Gd-MRT-Kontrastmitteln untersucht. Dieses Material stand erst am Ende der Arbeit zur Verfügung. Die *ZIC-cHILIC* Säule hat eine Phosphorylcholine Endgruppe, an Stelle der Sulfobetaine Gruppe der *ZIC-HILIC* (die im Kapitel 8.3 beschrieben wurde); d.h. dass die terminale Gruppe der *ZIC-cHILIC* eine quart. Amminogruppe besitzt und daher besser mit negativgeladenen Gd-Kontrastmitteln wechselwirken sollte, als mit der Sulfitgruppe der *ZIC-HILIC*. Zudem erlaubt die positivere Oberflächenladung der *ZIC-cHILIC* Säule (Zeta-Potential) gegenüber der *ZIC-HILIC* eine bessere Interaktion mit den Gd-Kontrastmitteln. So wird erwartet, dass die Gd-Kontrastmittel eine bessere Wechselwirkung mit der Stationären Phase zeigen und somit eine effektivere Trennung auf der *ZIC-cHILIC* erzielt werden soll.

8.3.3.2 Optimierung der Parameter

Für die Trennung der fünf Gd-MRT-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-DTPA, Gd-DOTA, Gd-DTPA-BMA und Gd-BTDO3A auf der *ZIC-cHILIC* wurde zuerst der Eluent optimiert. Als Eluent wurde eine Mischung aus Acetonitril, Wasser und Ammoniumacetat verwendet, die auch schon für die Trennung mittels *ZIC-HILIC* verwendet wurde (62 : 38 vol% Acetonitril : Wasser mit 20 mM Ammoniumacetat, pH = 7,5).

Alle fünf Gd-Komplexe liefern relativ schmale Signale ($w_{50\%}$ = 29–40 s), im Vergleich zur *ZIC-HILIC* Methode (Kapitel 8.3). Interessanterweise ist die Retentionsreihenfolge auf der *ZIC-cHILIC* mit der *ZIC-HILIC* identisch, obwohl vom Säulenmaterial der *ZIC-cHILIC* die geladenen

Komplexe wie Gd-BOPTA, Gd-DTPA und Gd-DOTA zu einer späteren Retentionszeit als die ungeladenen Komplexen (Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A) erwartet wurden. Unter den Analysebedingungen weisen die Komplexe Gd-DTPA²⁻ und Gd-DOTA¹⁻ die gleiche Retentionszeit (Abbildung 10) auf, obwohl die Trennung zum größten Teil nach Ladung stattfinden sollte.

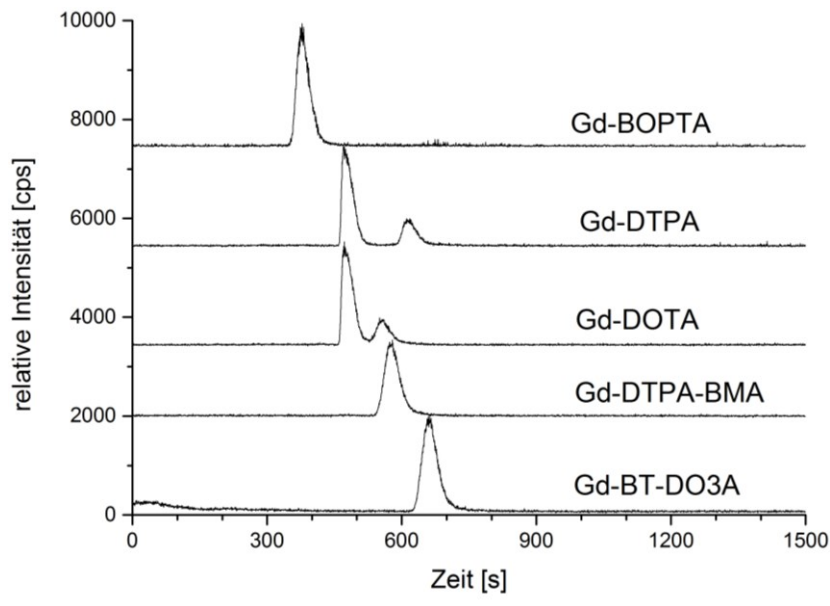


Abbildung 10: HPLC-ICP-MS Chromatogramme: Trennung von fünf Gd-MRT-Kontrastmittel auf der ZIC-cHILIC (Eluent: 62 : 38 vol% Acetonitril : Wasser mit 20 mM Ammoniumacetat, pH = 7,5). Peaksplitting von Gd-DTPA und Gd-DOTA.

Die Komplexe Gd-DTPA und Gd-DOTA weisen ein zweites Signal auf, dessen Retentionszeiten sich aber unterscheiden. Möglicherweise könnte es sich bei den zwei Signalen um neutrale oder positivgeladenen Intermediate der Komplexe handeln. Mit dieser Eluentenwahl können bereits die Komplexe Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA und Gd-BT-DO3A gut getrennt werden.

Um eine Optimierung des Eluenten durchzuführen, wurde zunächst der Einfluss von Acetonitril betrachtet. Wie auch bei der ZIC-HILIC hat der Acetonitrilanteil im Eluenten einen Haupteinfluss auf die Retentionszeiten der Gd-Kontrastmittel. Eine Erhöhung der Konzentration führt zu einer Erhöhung der Retentionszeit für alle Gd-Kontrastmittel. Die stärkste Retentionszeitzunahme ist bei dem Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA zu beobachten, so

wurde die Retentionszeit von 30 auf 40 min erhöht, bei einer Steigerung der Acetonitrilkonzentration von 68 auf 72 vol% (17 mM Ammoniumacetat, pH = 5,0) im HPLC-Eluenten.

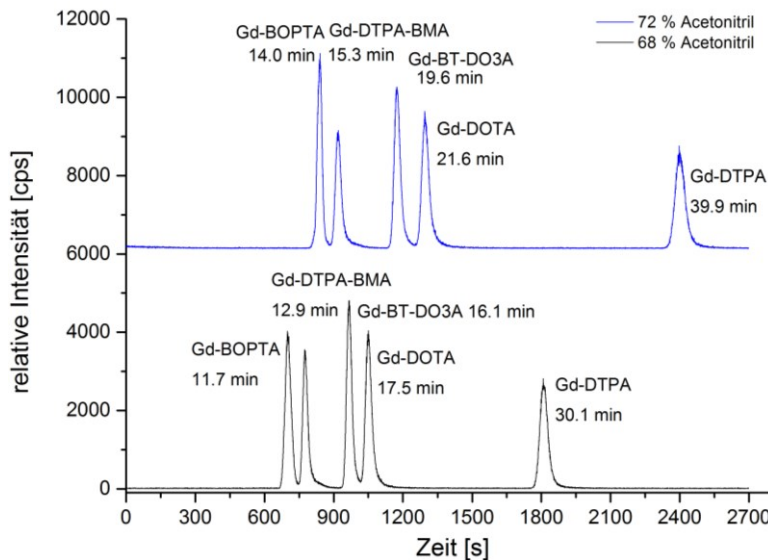


Abbildung 11: HPLC-ICP-MS Chromatogramme: Vergleich von verschiedenen Acetonitrilkonzentration im HPLC-Eluenten: 72 vol% (blau) und 68 vol% (schwarz).

Die Erhöhung der Ammoniumacetatkonzentration im HPLC-Eluenten hat auch einen Einfluss auf die Peaksymmetrie. So ist bei einer Konzentration von 20 mM Ammoniumacetat ein Fronting von Gd-BOPTA zu beobachten. Das Fronting kann z.B. durch konkurrierende Ionenpaar-Mechanismen hervorgerufen werden kann. Deswegen wurde die Ionenstärke gesenkt. Bei einer Konzentration 10 mM Ammoniumacetat tritt dieser Effekt nicht mehr auf (Abbildung 12). Wird bei einer Ammoniumacetatkonzentration von 20 mM die Flussgeschwindigkeit von $150 \mu\text{L min}^{-1}$ auf $200 \mu\text{L min}^{-1}$ erhöht, so ist das Fronting noch stärker ausgeprägt und besitzt auch Ansätze zum Peaksplitting (Abbildung 13).

Da eine Trennung hinsichtlich der Ladung erwartet wird, ist der pH-Wert des Eluenten ein Schlüsselparameter für die Trennung der Gd basierten Kontrastmittel. Unterschiedliche pH-Werte bewirken unterschiedliche Separationsmechanismen auf der ZIC-cHILIC, sodass über den pH-Wert die Retentionsreihenfolge der Gd-Kontrastmittel bestimmt werden kann. Mit einem pH-Wert von 7,5 wird ein Peaksplitting der Spezies Gd-DTPA und Gd-DOTA beobachtet, sowie eine Überlappung der Retentionszeiten beider Gd-Kontrastmittel (Abbildung 10). Bei diesem pH-Wert retendieren die geladenen Gd-Kontrastmittel als

erstes, gefolgt von den Ungeladenen. Die Retentionsreihenfolge ist: Gd-BOPTA, Gd-DTPA und Gd-DOTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A.

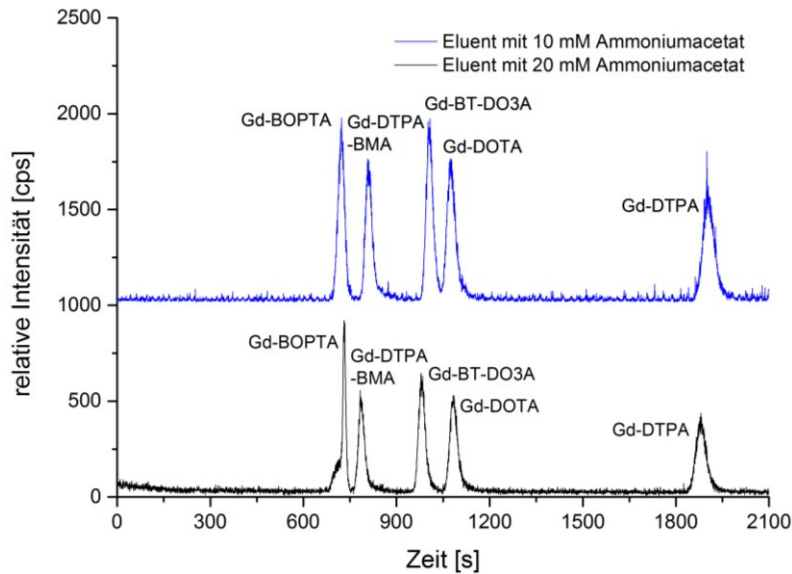


Abbildung 12: Vergleich von verschiedenen Ammoniumacetatkonzentrationen im Eluenten: 20 mM mit Fronting von Gd-BOPTA (schwarz); 10 mM Ammoniumacetat (blau).

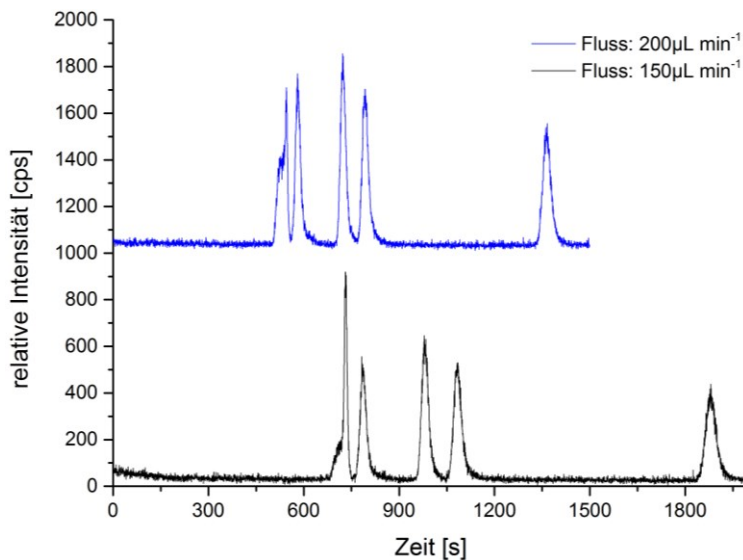


Abbildung 13: Variation der HPLC-Flussgeschwindigkeit (mit 20 mM NH_4Ac im Eluenten): 200 $\mu\text{L min}^{-1}$ (blau), 150 $\mu\text{L min}^{-1}$ (schwarz).

Durch eine Senkung des pH-Wertes auf 5,8 wird kein Peaksplitting mehr beobachtet, allerdings können die zwei Spezies Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA nicht mehr getrennt werden

(Abbildung 14). Die Retentionsreihenfolge hat sich geändert, sodass die geladenen Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-DTPA als letztes retendieren. Gd-BOPTA das ebenfalls negativ geladen ist, wird von der pH-Änderung nur wenig beeinflusst, dies ist auf die hydrophobe Seitenkette zurückzuführen, die hier entscheidend für die Retentionszeit von Gd-BOPTA auf der ZIC-cHILIC Säule ist.

Durch eine weitere Reduzierung des pH-Wertes auf 5,0 ist eine Basislinientrennung aller Gd-Kontrastmittel möglich (Abbildung 15). Deswegen wird dieser pH-Wert für die Speziesanalytik auf der ZIC-cHILIC HPLC-Säule im Weiteren verwendet. Die Retentionsreihenfolge lautet: Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA, Gd-DTPA. Wird der pH-Wert weiter reduziert, so kommt es zu einer Überlappung von Gd-BOPTA und Gd-DTPA-BMA (Abbildung 15). Zudem wird bei diesem pH-Wert eine Abnahme der Intensitäten der offenkettigen Gd-Kontrastmittel beobachtet. Dies lässt auf eine geringere Stabilität der offenkettigen Gd-Kontrastmittel bei niedrigen pH-Wert auf der Säule schließen. Auf Grund dieser Erkenntnis sollten niedrige pH-Werte auf der ZIC-cHILIC vermieden werden. Die Stabilität von Gd-Kontrastmitteln bei niedrigen pH-Wert wurde u.a. im Kapitel 6.5 (Transmetallierung und Abbau von Gd-Kontrastmitteln) behandelt.

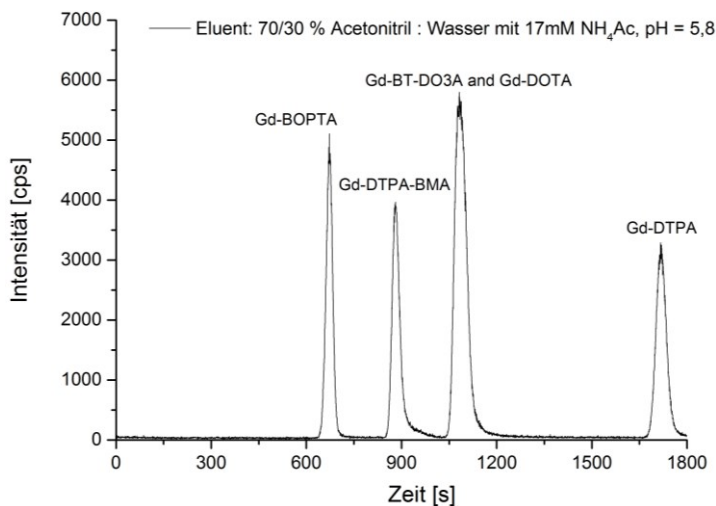


Abbildung 14: HPLC-ICP-MS Chromatogramm: Trennung von Gd-Kontrastmitteln mit einer Überlappung der Spezies Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA bei pH = 5,8 des Eluenten.

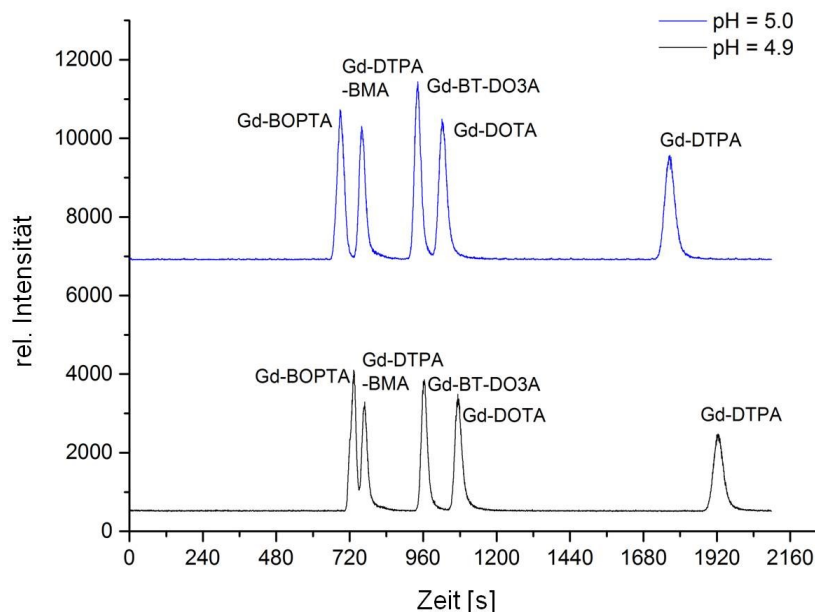


Abbildung 15: HPLC Chromatogramme: Einfluss von verschiedenen pH-Werten des Eluenten auf die Trennung von fünf Gd-Kontrastmitteln mit der ZIC-cHILIC; pH = 5.0 (blau) und pH = 4.9 (schwarz).

Aus der Optimierung der Eluentenkomponenten wurde eine Mischung aus Acetonitril und Wasser 69 : 31 vol % mit 10 mmol L⁻¹ Ammoniumacetat gewählt. Der pH-Wert wurde auf 5,0 eingestellt. Die HPLC-Flussrate beträgt 150 µL min⁻¹ soweit nicht anders angegeben. Unter diesen Bedingungen kann eine Basislinientrennung der fünf Gd-MRT-Kontrastmittel auf der ZIC-cHILIC in ca. 30 min realisiert werden (Abbildung 16). Um eine schnellere Trennung zu ermöglichen, was mit einer geringen Verschlechterung der Signalauflösung einher geht, wurde die Flussrate in einigen Experimenten auf 200 µL min⁻¹ erhöht. Die Analysenzeit der fünf Gd-Kontrastmittel beträgt hier 23 min. Bei einer Erhöhung der Flussrate muss beachtet werden, dass das Zusatz-Gas (O₂/Ar) im ICP-MS auf Grund der höheren organischen Lösungsmittelbelastung ebenfalls erhöht werden muss.

Um eine optimale Trennung zu gewährleisten, sollte die jeweilige Probe eine Lösungsumgebung aufweisen, wie die des HPLC-Eluenten. Deswegen wurden unterschiedliche Konzentrationen an Acetonitril zur Probe hinzugegeben. Hierbei ist ein erheblicher Unterschied zu verzeichnen. Wird kein Acetonitril hinzugegeben, sind die Peaks sehr breit und es kommt wie bei Gd-BOPTA zum Peaksplitting. Bei 50 % Acetonitril in der Probe wird eine gute Trennung erreicht; das Fronting von Gd-BOPTA tritt wie bereits

erwähnt hier auf Grund der hohen Ammoniumacetatkonzentration (20 mM) auf. Bei 75 % Acetonitril tritt kein Tailing, Fronting oder Splitting mehr auf (Abbildung 17).

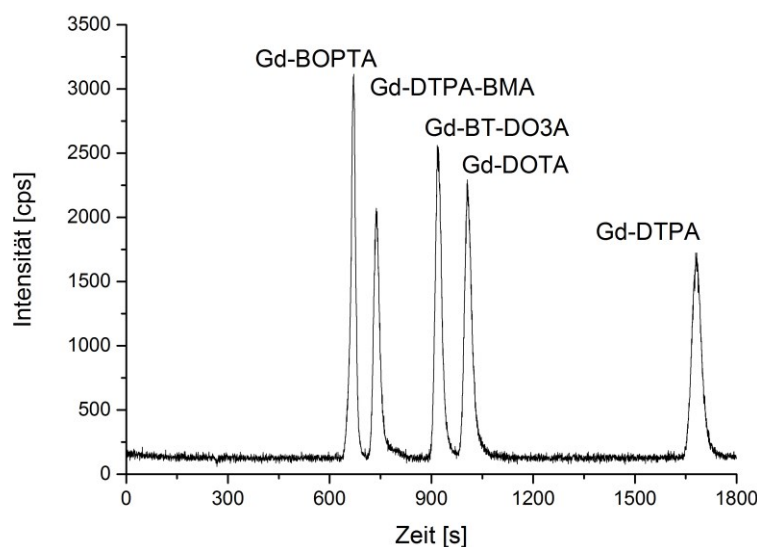


Abbildung 16: HPLC-ICP-MS Chromatogramm: Optimierte Trennung von fünf Gd-Kontrastmitteln auf der ZIC-chILIC Säule. Eluent: Acetonitril : Wasser 69 : 31 vol % mit 10 mmol L⁻¹ Ammoniumacetat, pH = 5.0; HPLC-Fluss: 150 µL min⁻¹

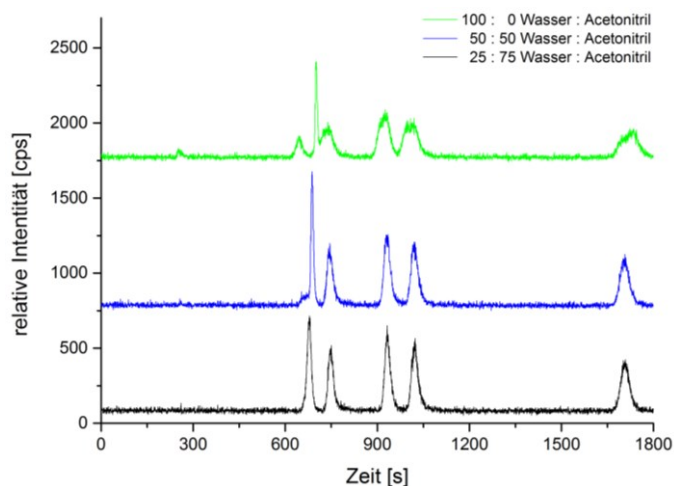


Abbildung 17: HPLC ICP-MS Chromatogramme: Einfluss der Acetonitril-Konzentration in der Probe auf die Trennung; 0 % (grün), 50 % (blau), 75 % (schwarz).

Durch die Zugabe von geringen Mengen wässrigem Ammoniak (0,05 %) zur Analyseprobe konnte die Peakbreite von Gd-BOPTA erheblich verringert. Dies führt zu größerer Peakhöhe und damit zu einer verbesserten Nachweisgrenze. Zudem kann ein Fronting von Gd-BOPTA verhindert werden, wobei allerdings ein leichtes Tailing nachteilig auftritt (Abbildung 18). Die Gd-Intensitäten der Gd-Signale bei Zugabe von Ammoniak und ohne Zugabe wurden verglichen. Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 17). Dies ist vor allem von Interesse für die beschriebene Anreicherungstechniken von Gd-Kontrastmitteln (Kapitel 8.4.3 und 8.4.4), da hier mit wässrigem Ammoniak eluiert werden soll.

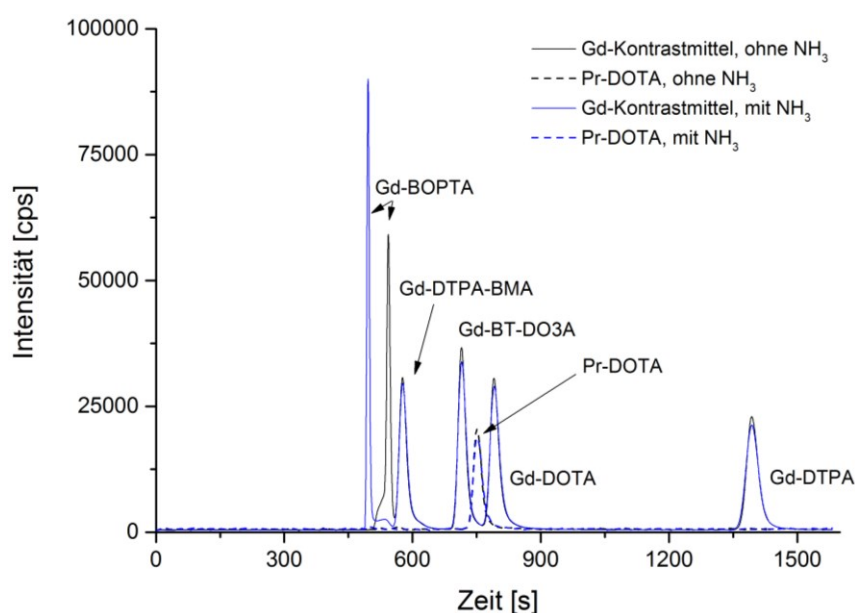


Abbildung 18: HPLC-ICP-MS Chromatogramme: Vergleich der Signale der Gd-Kontrastmittel und Pr-DOTA. Probe wurde zusätzlich mit 0,5 % NH_3 versetzt (blau); Probe ohne NH_3 (schwarz).

Tabelle 17: Vergleich der integralen Fläche der Signale bei Zugabe von NH_3 zur Gd-Kontrastmittel Probe vs kein Zusatz.

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA	Pr-DOTA
Vergleich der integralen Fläche ohne/mit NH_3 Zusatz	$99 \pm 3 \%$	$102 \pm 3 \%$	$102 \pm 3 \%$	$102 \pm 4 \%$	$102 \pm 1 \%$	$99 \pm 3 \%$

8.3.3.3 Kenngrößen der Speziesanalytik für ZIC-cHILIC

Der Säulen-Wiederfindungswert, auch Recovery genannt, ist vor allem für HPLC-Analysen von Interesse. Der Wiederfindungswert kann benutzt werden, um abzuschätzen, ob es zu Verlusten des Analyten während der Messung kommt. Mögliche Ursachen für den Verlust des Analyten ist der Zerfall des Analyten auf der Säule, sehr starke Retention bzw. irreversible Bindung des Analyten auf der Säule oder im HPLC System. Bezogen auf die Gd-MRT-Kontrastmittel bedeutet dies, dass z.B. eine Dekomplexierung oder Transmetallierung stattfinden kann. Für den Wiederfindungswert wird die Signalfläche von der jeweiligen Substanz einmal mit und einmal ohne HPLC-Säule analysiert. Der Quotient aus beiden gemessenen integralen Signalintensitäten bildet den Wiederfindungswert für die HPLC-Säule und sollte im Idealfall 1 (bzw. 100 %) betragen.

Die Wiederfindungswerte für die ZIC-cHILIC Säule wurde für alle fünf Gd-Kontrastmittel bestimmt, indem die jeweiligen Kontrastmittel nach der Injektion zum Einen über die ZIC-cHILIC Säule retendierten und zum anderen Mal auf direktem Weg über PEEK-Kapillaren zum ICP-MS gelangten. Beide Signale wurden integriert und ein Verhältnis aus den beiden Integralen gezogen. Hierbei wurden Wiederfindungswerte von ca. 100 % für Gd-DPTA, Gd-DOTA und Gd-BOPTA gefunden (Tabelle 18). Gd-BT-DO3A weist mit 93 % ebenfalls eine gute Wiederfindung auf. Bei Gd-DTPA-BMA kommt es zu leichten Verlusten des Komplexes auf der Säule, sodass eine Wiederfindung von 83 % bestimmt wird. Eine mögliche Erklärung ist, dass das offenkettige Gd-DTPA-BMA das instabilste Gd-Kontrastmittel ist ($\log K_{\text{therm}} = 16,8$). Da das ZIC-cHILIC Säulenmaterial aus Phosphorylcholin modifiziertes Silica besteht und Gadolinium eine sehr hohe Affinität zu Phosphat aufweist, kann es zur Dekomplexierung bzw. Transmetallierung von Gd-DTPA-BMA auf der Säule kommen.

Tabelle 18: Säulen-Wiederfindungsrate von Gd-Kontrastmitteln auf der ZIC-cHILIC Säule.

Kontrastmittel	Wiederfindungsrate
Gd-DTPA	104 ± 3 %
Gd-DOTA	101 ± 3 %
Gd-BT-DO3A	93 ± 1 %
Gd-BOPTA	105 ± 2 %
Gd-DTPA-BMA	83 ± 1 %

n = 3

Um zu überprüfen, wie affin sich Gadolinium zum Säulenmaterial verhält, wurde freies Gd^{3+} als GdCl_3 auf die Säule gegeben und mit dem gleichen Eluenten, wie für die Gd-Kontrastmittel Speziesanalytik, eluiert. Im Zeitraum von 90 min wurde kein Signal detektiert. Die lässt auf eine sehr starke Bindung von Gd-Ionen zur Säule schließen.

Nach einiger Zeit traten Probleme mit einem recht hohen Gd-Untergrund auf. Zusätzlich traten Artefakt-Signale (517 sek) in der Nähe der Retentionszeit von Gd-BOPTA (540 sek) auf, wenn ammoniakhaltige Proben auf die Säule gegeben wurden. Abbildung 19 zeigt ein typisches Chromatogramm von fünf Gd-MRT-Kontrastmitteln, zum Vergleich eine Blindproben mit Artefakt-Signal.

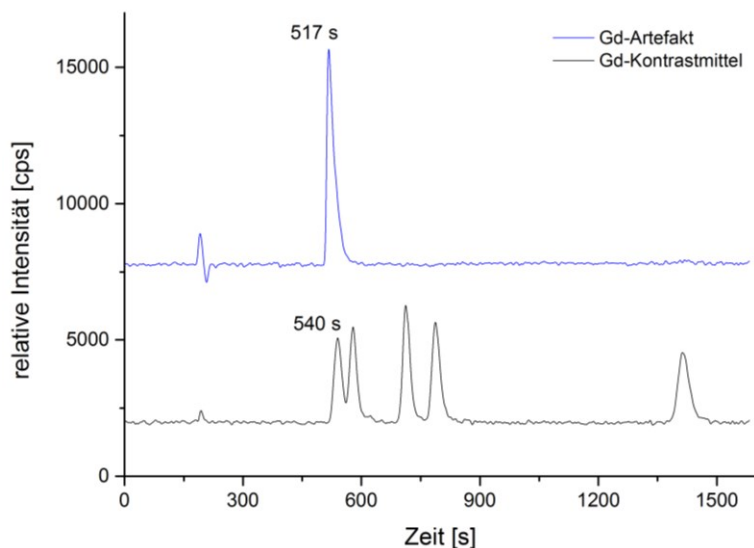


Abbildung 19: HPLC-ICP-MS Chromatogramm von fünf Gd-Kontrastmitteln (schwarz); Artefakt (517 s) bei ähnlicher Retentionszeit wie Gd-BOPTA (540 s), verursacht durch Gd auf der HPLC-Säule (blau).

Dieses Artefakt-Signal lässt darauf schließen, dass Gadolinium, das auf der Säule verblieben war, von dort eluiert wird. Dies konnte bestätigt werden durch mehrfache Injektion von freiem DTPA-Komplex ($\text{H}_5\text{-DTPA}$), sodass Gd-DTPA Signale detektiert werden konnten. Die Intensität von Gd-DTPA sank nach jeder Injektion von $\text{H}_5\text{-DTPA}$. Nach dieser Säulenreinigung wurde keine Artefakte mehr beobachtet.

Eine ausführliche Säulenreinigung, wie sie laut Hersteller empfohlen wird [Wasser / 0,5 M NaCl / 5 mM NH_4Ac 80 : 20 (Wasser : Acetonitril)], brachte hingegen keinen nennenswerten Erfolg. Eine bessere Methode zur Säulenreinigung als mit $\text{H}_5\text{-DTPA}$, ist die Verwendung von

hohen Konzentrationen an wässriger Ammoniumacetatlösung (0,5 M). Ammoniumacetat wird auch im HPLC-Eluenten in niedriger Konzentration von 10–20 mM verwendet. Das Ammoniumacetat im Eluenten bewirkt einen kontinuierlich erhöhten Gd-Untergrund.

Die Säulenreinigung mit Ammoniumacetat (0,5 M) wurde chromatographisch verfolgt und ist in Abbildung 20 dargestellt. Nach 10 Sekunden steigt die Gd-Intensität durch das Ammoniumacetat stark von 2.000 cps auf 300.000 cps an. Zum Vergleich wurden auch noch andere Seltene Erdmetalle gemessen, die ein gleiches Verhalten zeigen. Die Intensitäten flachen schnell wieder ab. Über Nacht wurde die Säule weiter mit niedriger Flussgeschwindigkeit ($30 \mu\text{L min}^{-1}$) gespült. Die Säulenreinigung hatte zum Resultat, dass der Gd-Untergrund erheblich von 2000 cps auf 100 cps reduziert wurde. Deswegen wird in weiteren Messungen die HPLC-Säule nach jeder Messsequenz gereinigt. Durch die erhebliche Reduzierung konnte die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen stark verbessert werden.

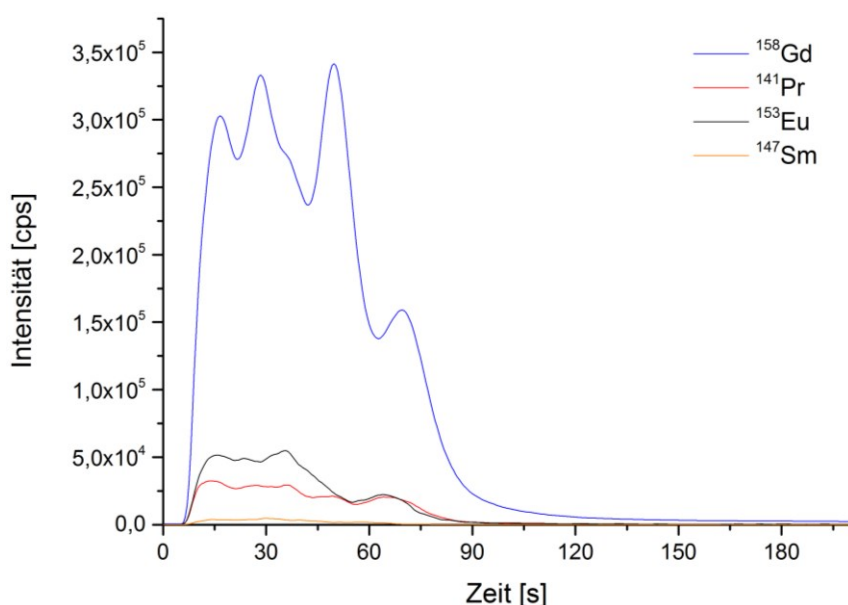


Abbildung 20: HPLC-ICP-MS Chromatogramm: Elution von Gd^{3+} (und andere Seltenen Erden) mittels NH_4Ac von der ZIC-cHILIC Säule.

Für jedes Gd-Kontrastmittel wurde eine lineare Kalibrierkurve mit sieben Messpunkten im Konzentrationsbereich von 0–10 $\mu\text{g Gd L}^{-1}$ für die ZIC-HILIC ICP-MS Methode bestimmt. Die Korrelationskoeffizienten (R^2) sind für jedes Gd-Kontrastmittel größer 0,999. Alle Gd-Spezies wurden über das ^{158}Gd Isotope bestimmt. Die Nachweisgrenze (LOD) und die

Bestimmungsgrenze (LOQ) wurden bestimmt über die 3σ und 10σ Kriterien im Integrationsbereich für jedes Gd-Kontrastmittel (DIN 32645, 2008). Die LODs und LOQs wurden für alle Gd-Kontrastmittel im Bereich von $1,4\text{--}3,5\text{ ng L}^{-1}\text{ Gd}$ und $4,7\text{--}11,7\text{ ng L}^{-1}\text{ Gd}$ bestimmt (Tabelle 19) und sind damit deutlich niedriger als bei der ZIC-HILIC ICP-Methode (Kapitel 8.3.2), bei der die LODs im Bereich von $40\text{--}63\text{ ng Gd L}^{-1}$ liegen. Die relativen Standardabweichungen (RSD) für die Flächenintegrale der einzelnen Gd-Spezies wurden auf $3\text{--}5\%$ bestimmt. Die RSD für die Retentionszeiten der einzelnen Gd-Spezies liegt unter $0,5\%$. Für die Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sowie für die Speziesanalytik von Kontrastmittel nah an der Bestimmungsgrenze wurde einem HPLC-Injektionsvolumen von $10\text{ }\mu\text{L}$ statt $5\text{ }\mu\text{L}$ gewählt. Dies führt allerdings zu einer geringen Verschlechterung der Peakauflösung.

Tabelle 19: Nachweisgrenzen (LOD) und Bestimmungsgrenzen (LOQ) für die Speziesanalytik mit ZIC-cHILIC – ICP-MS.

Kontrastmittel	Nachweisgrenzen [ng L ⁻¹ Gd]	Bestimmungsgrenzen [ng L ⁻¹ Gd]	Zum Vergleich: Nachweisgrenzen ZIC-HILIC-ICP-MS [ng L ⁻¹ Gd]	Zum Vergleich: Bestimmungsgrenzen ZIC-HILIC-ICP-MS [ng L ⁻¹ Gd]
Gd-BOPTA	2,1	6,7	63	190
Gd-DTPA-BMA	3,5	11,7	40	119
Gd-BT-DO3A	1,4	4,7	48	144
Gd-DOTA	1,5	4,9	41	124
Gd-DTPA	2,4	7,5	62	186

8.3.4 Optimierung der Speziesanalytik mittel RP-HPLC – UV/VIS

8.3.4.1 Speziesanalytik von Gd-DTPA und freiem DTPA

Um den freien DTPA-Komplex neben dem Gd-Kontrastmittel-Komplex Gd-DTPA nachweisen zu können, wurde eine Speziesanalytik für die Analyse von Gd-DTPA und DTPA realisiert. In vielen gängigen Gd-MRT-Kontrastmitteln werden die jeweiligen metallfreien Komplexe in geringen Mengen hinzugegeben. Damit soll zum Einen ein Überschuss an freiem Gd³⁺ verhindert werden, das in unkomplexierter Form toxisch ist und zum anderen Transmetallierungsprozesse im Körper minimieren, indem durch Transmetallierung freigewordenes Gd³⁺ sofort wieder komplexiert wird (siehe Kapitel 6.4). Für das

Kontrastmittel Magnevist (Gd-DTPA) liegt die Konzentration von beigefügten freien DTPA bei 1 mmol L^{-1} , im Verhältnis zu Gd-DTPA ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) entspricht dies 0,2 %.

Da eine Detektion von DTPA neben Gd-DTPA mit einem ICP-MS schlecht umsetzbar ist, wurde die Detektion mittels UV-Absorption durchgeführt. Da die verwendete ZIC-HILIC Säule (Kapitel 8.3) mit hohen Konzentrationen (mmol L^{-1} -Bereich) von Gd-DTPA und DTPA keine reproduzierbaren Ergebnisse lieferte, wurde für die Trennung der beiden Spezies eine Reverse-Phase-Säule verwendet. Die Methode ist an die Methode zur Bestimmung von Magnevist an die Pharmacopeia United States angelehnt [218].

Für die Analyse wurde eine MOS-1 Hypersil Säule verwendet. Das Silicamaterial ist hierbei mit C8-Funktionellen Gruppen ausgestattet (non-endcapped). Als HPLC-Eluent wurde eine Mischung aus Acetonitril, Wasser und dem Ionenpaarbildner Tetrabutylammonium-perchlorat (TBAPC) verwendet. TBAPC dient hierbei als ein entscheidender Bestandteil für die Speziesanalytik der hydrophilen Spezies Gd-DTPA und DTPA auf einer Reverse-Phase Säule. Das positive Ionenpaarreagenz TBAPC lagert sich an die negativen Bindungsstellen des Analyten an und ermöglicht eine Retention auf der Reverse-Phase HPLC-Säule für die hydrophilen Substanzen Gd-DTPA und DTPA. Hierbei ist zu beachten, dass die Probe vor der Analyse ausreichend im Eluenten gelöst wird, sodass der pH-Wert reproduzierbar ist, der auf Grund des Ionenpaarreagenz einen starken Einfluss auf die Retention der Spezies haben kann. Zum anderen ist es wichtig, dass die Analyten mit dem Ionenpaarreagenz vor der HPLC-Analyse reagieren können, da die Spezies ohne TBAPC-Bindung keine Retention auf der Säule aufweisen und somit bereits im Totvolumen eluieren.

Je mehr Bindungsstellen der Analyt (Gd-DTPA^{2-} , DTPA^{5-}) für das Ionenpaarreagenz (TBAPC) aufweist, umso mehr ist ein Tailing zu erwarten. Beispielsweise besitzt Gd-DTPA^{2-} zwei Bindungsstelle und weist bei gleicher Konzentration ein geringeres Tailing auf als DTPA^{5-} mit fünf Bindungsstellen (Abbildung 21). Mit Abnahme der Konzentration nimmt auch die Asymmetrie ab.

Bei der HPLC Analyse dient Acetonitril als Elutionsmittel. Je mehr Acetonitril im Eluenten ist, umso kürzer sind die Retentionszeiten von Gd-DTPA und DTPA, bzw. der gebildeten Spezies Gd-DTPA-TBAPC und DTPA-TBAPC . So bewirkt eine Erhöhung der Acetonitril-konzentration im HPLC-Eluenten von 12 auf 29 vol% (Abbildung 21, Abbildung 22) eine Retentionszeitverkürzung von 17,6 min auf 3,1 min für DTPA und 4,7 min auf 1,7 min für Gd-DTPA.

Neben den Spezies Gd-DTPA und DTPA beinhaltet das Kontrastmittel Magnevist noch Meglumine als Additiv, das als Gegenion zu Gd-DTPA fungiert. Meglumine ist ein isotonischer Natriumion-(Na⁺)-Ersatz, das in physiologischen Lösungen Anwendung findet. Meglumine redentiert auf Grund der hydrophilen Eigenschaft und mangels Wechselwirkung mit dem Ionenpaarreagenz im Totvolumen.

Für die Analyse von Gd-DTPA und DTPA wurde der optimierte Eluent 79 : 21 vol% Wasser : Acetonitril mit 1,37 g L⁻¹ TBAPC gewählt. Die Eluentenflussrate beträgt 2,0 mL min⁻¹.

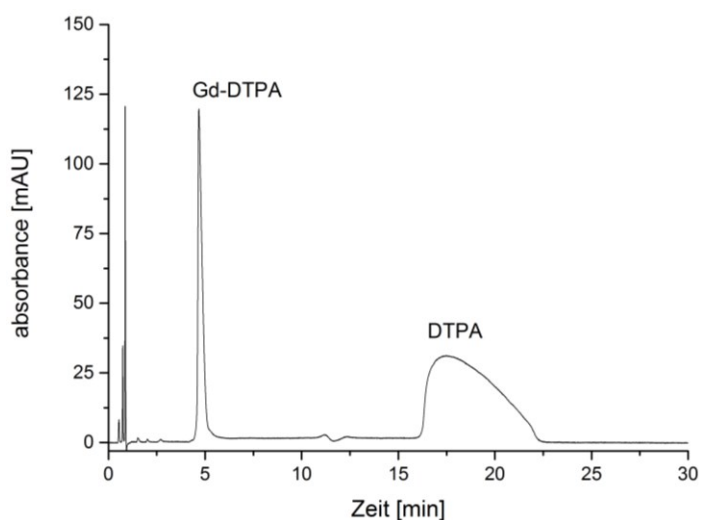


Abbildung 21: HPLC-Chromatogramm des Gd-Kontrastmittels Gd-DTPA bei 4.7 min und DTPA bei 17.6 min.

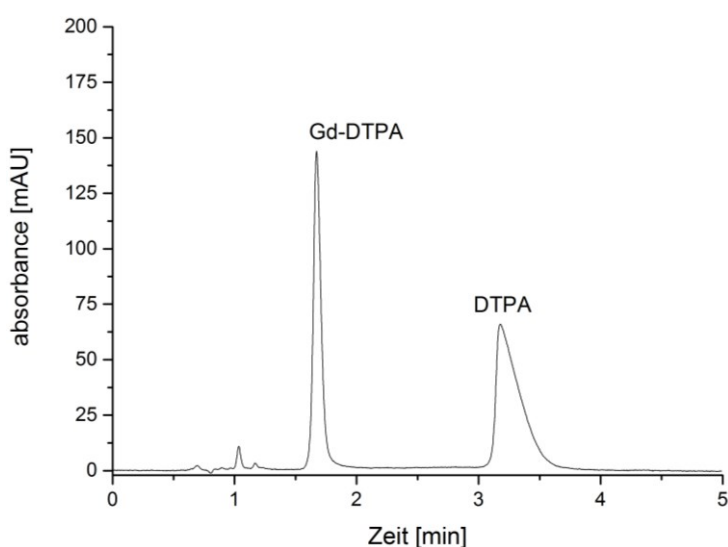


Abbildung 22: HPLC-Chromatogramme, unter optimierten Bedingungen, von Gd-DTPA bei 1.6 min und DTPA bei 3.1 min.

Für die Spezies Gd-DTPA und DTPA wurde die Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 0–1800 $\mu\text{g Gd mL}^{-1}$ bestimmt. Eine lineare Kalibrierkurve mit sieben Messpunkten wurde im Bereich von 50 bis 1800 $\mu\text{g Gd L}^{-1}$ für Gd-DTPA und DTPA durchgeführt. Die Korrelationskoeffizienten (R^2) sind jeweils größer 0,999. Die Signalintensitäten lassen sich sowohl für Gd-DTPA als auch für DTPA mit einem RSD ($n = 7$) von 1,5 % reproduzieren. Alle Spezies wurden über UV-Absorbance bei 195 nm bestimmt. Die Nachweisgrenze (LOD) und die Bestimmungsgrenze (LOQ) wurden bestimmt über die 3σ und 10σ Kriterien im Integrationsbereich für die jeweilige Spezies (DIN 32645, 2008). Die LODs für Gd-DTPA und DTPA wurde auf 30 bzw. 28 $\mu\text{g Gd mL}^{-1}$ bestimmt sowie die LOQs auf 106 bzw. 104 $\mu\text{g Gd mL}^{-1}$ (Tabelle 20). Das HPLC-Injektionsvolumen bei dieser Methode beträgt 10 μL .

Tabelle 20: Nachweisgrenzen (LOD) und Bestimmungsgrenzen (LOQ) für die Trennung von Gd-DTPA und DTPA mit RP-HPLC/UV.

Spezies	Nachweisgrenzen [$\mu\text{g mL}^{-1}$ Gd]	Bestimmungsgrenzen [$\mu\text{g mL}^{-1}$ Gd]
Gd-DTPA	30	106
DTPA	28	104

8.3.4.2 Speziesanalytik von Gd-DTPA, Gd-DTPA und Gd-BOPTA

Neben der Analyse von Gd-DTPA und DTPA (Kapitel 8.3.4) lassen sich auch weitere negativ geladene Komplexe mittels RP-HPLC-UV/Vis analysieren. Drei häufig verwendete Gd-Kontrastmittel dieser Art sind Dotarem (Gd-DOTA), Magnevist (Gd-DTPA), Multihance (Gd-BOPTA). Hierfür wird die MOS-1 Hypersil Säule verwendet, wie in Kapitel 8.3.4.1 beschrieben.

Als Eluent wird Wasser, Acetonitril im Verhältnis (vol%) 71 : 29 mit 1.37 g L^{-1} TBAPC. Die optimierte Flussrate liegt bei 2 mL min^{-1} . Für die Analyse wird das Ionenpaarreagenz TBAPC verwendet, das an die negativen Ladungen der Gd-Komplexe bindet und so eine Retention der Gd-Komplexe auf der Reversed Phase erzeugt. Alle neutralen Gd-Komplexe (z.B. Gd-BT-DO3A und Gd-DTPA-BMA) eluieren im Totvolumen.

Mit den oben genannten Parametern lässt sich eine chromatographische Trennung und Detektion der drei Kontrastmittel Dotarem (Gd-DOTA), Magnevist (Gd-DTPA) und

Multihance (Gd-BOPTA) realisieren (Abbildung 23). Die Analysezeit beträgt 3 min. Somit ist eine einfache und schnelle Analysemethode für Gd-Kontrastmittel im $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bereich mittels UV-Detektion möglich.

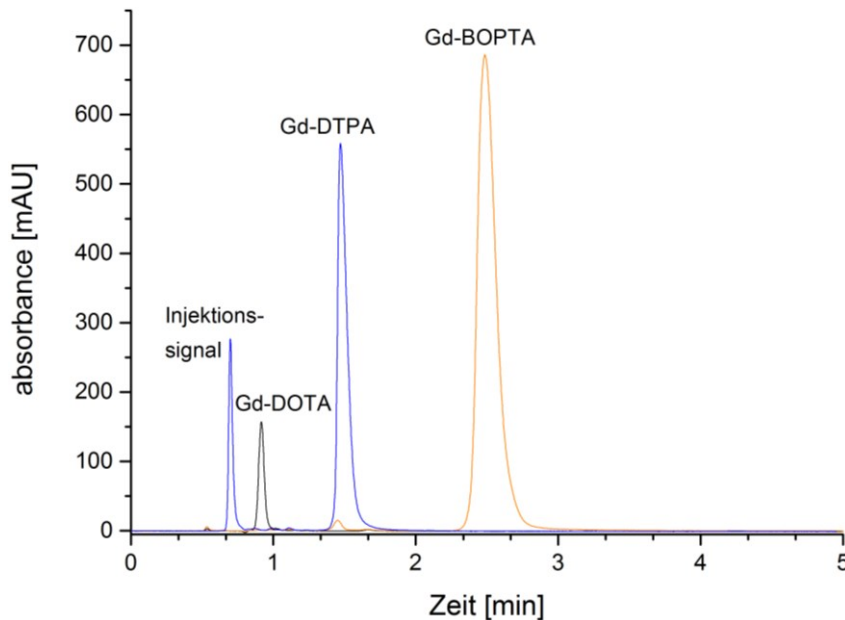


Abbildung 23: HPLC-Chromatogramme für die Trennung der drei Kontrastmittel Dotarem, Magnevist, Multihance auf RP-Säule, Eluent: 71 : 29 vol% Wasser/Acetonitril mit 1.37 g TBAPC, Fluss: 2 mL min⁻¹, Detektion: 195 nm.

Da das Kontrastmittel Dotarem (Gd-DOTA) relativ nah am Totvolumen eluiert, ist es möglich, dass ein Nachweis von Dotarem in matrixreichen Proben nicht möglich ist, deswegen wurde eine Gradientenmethode gewählt. Eluent A besteht aus Wasser : Acetonitril (90 : 10) mit 1.37 g L⁻¹ TBAPC. Eluent B besteht aus Wasser : Acetonitril (2 : 98) mit 1.37 g L⁻¹ TBAPC. Details zum Gradienten sind in Tabelle 21 aufgelistet. Der Eluenten-Fluss liegt bei 2 mL min⁻¹. Die Zeit der Speziesanalytik beträgt 10 min, die zusätzliche Equilibrierungszeit beträgt 5 min (Abbildung 24). Die Analyse der Gd-Kontrastmitteln mittels HPLC-UV/VIS kann z.B. für die Qualitätskontrolle der Gd-Kontrastmittel Stammlösungen verwendet werden.

Tabelle 21: HPLC Gradient für die Trennung von Gd-Kontrastmitteln.

Zeit [min]	Eluent A [%] (90:10 H ₂ O : AcN mit 1,37 g TBAPC)	Eluent B [%] (02:98 H ₂ O : AcN mit 1,37 g TBAPC)
0	100	0
10,0	75	25
10,1	100	0
15,0	100	0

AcN = Acetonitril; TBAPC = Tetrabutylammoniumperchlorat

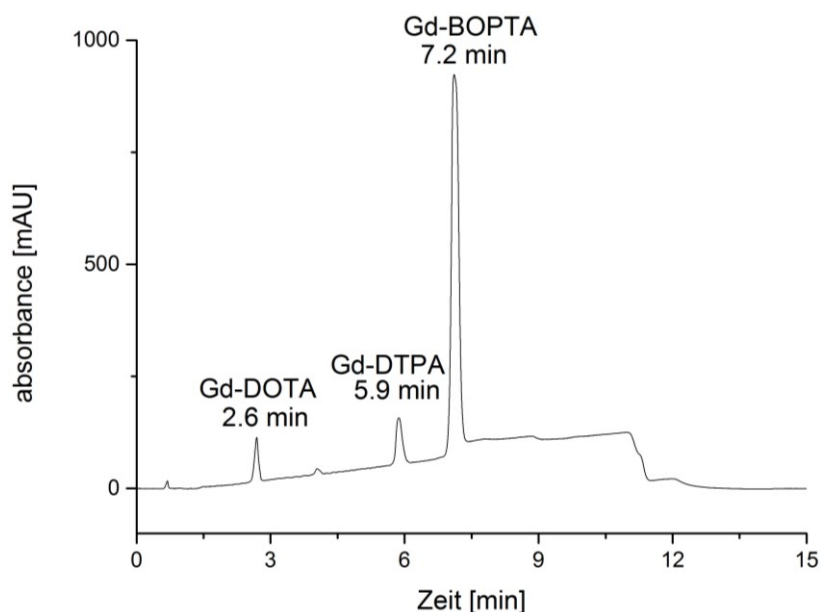


Abbildung 24: HPLC-Chromatogramme für die Trennung der drei Kontrastmittel Gd-DOTA, Gd-DTPA, Gd-BOPTA mittels Gradientenelution.

8.3.5 Interner Standard für die Speziesanalytik mittels HPLC-ICP-MS

Ein interner Standard für die Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln ist wichtig, um z.B. Intensitätsschwankungen auszugleichen. Vor allem Plasmainstabilitäten oder Ablagerungen auf den Cones des ICP-MS können diese Intensitätsschwankungen und -drifts bewirken. Dies kann durch eine Instabilität des RF-Generators für das ICP-MS Plasma, aber auch z.B. durch die Variation der Probenmatrix hervorgerufen werden. Zudem können durch einen internen Standard Schwankungen des Injektionsvolumens ausgeglichen werden, aber auch Verluste bei der Probenpräparation. Zudem sollen Retentionszeitverschiebungen, die z.B. durch Matrix oder Temperatureinfluss entstehen, mittels internem Standard ausgeglichen werden. Auf Grund der Ähnlichkeit zu den Gd-Kontrastmitteln wurde der Komplex aus dem monoisotopischen Pr(III)-Ion und cyclischen Komplexbildner DOTA als geeigneter interner

Standard für die HPLC-ICP-MS Methode ausgewählt. Die Retentionszeit von Pr-DOTA für die ZIC-cHILIC ICP-MS Methode liegt bei ca. 11 min und damit zwischen den Retentionszeiten von Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA (Abbildung 25). Bei dem Unterschied in der Retentionszeit von Pr-DOTA im Vergleich zu Gd-DOTA ist unklar, ob die unterschiedliche Ionengröße der beiden Seltenen Erden (Pr^{3+} , Gd^{3+}) eine Rolle spielen, die Einfluss auf die Komplexgröße und die isomeren Form der Metall-DOTA Komplexe haben kann (*square antiprismatic* und *twisted square antiprismatic*) [219].

Als zweiter interner Standard für die Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln wurde der Komplex aus Sm und dem offenkettigen Komplexbildner DTPA gewählt. Die Retentionszeit für die ZIC-cHILIC ICP-MS Methode liegt bei ca. 24 min und besitzt damit eine ähnliche Retentionszeit wie Gd-DTPA (Abbildung 25).

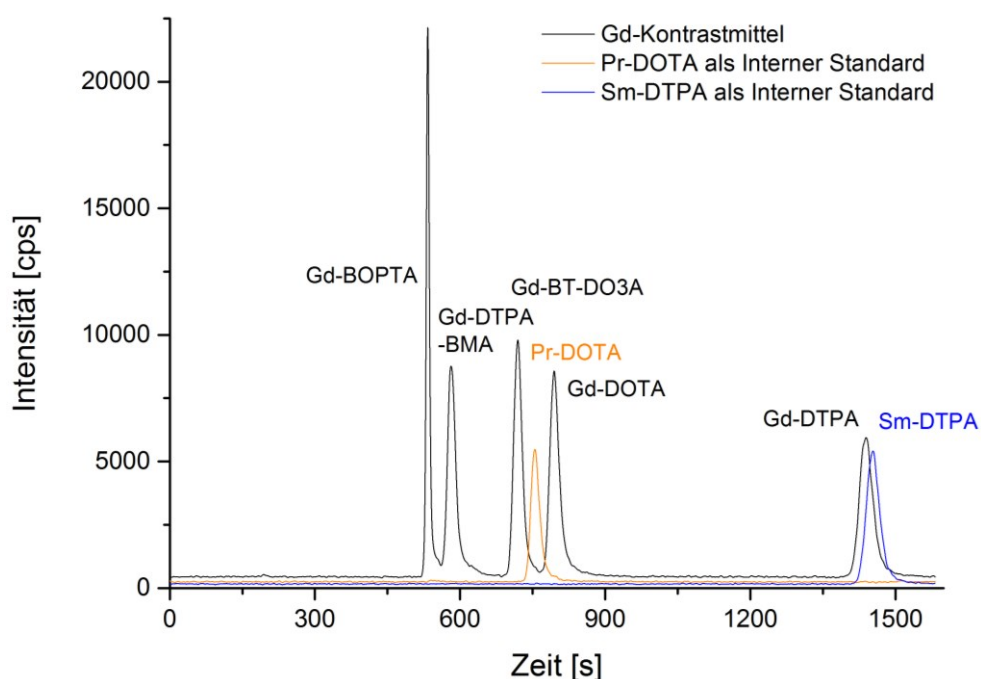


Abbildung 25: HPLC-ICP-MS Chromatogramm von fünf Gd-Kontrastmitteln (schwarz) und den internen Standards Pr-DOTA (orange) und Sm-DTPA (blau).

Um die Vorteile des internen Standards zu zeigen, wurde über vier Stunden die Standardabweichung von sieben Messungen für jedes Gd-Kontrastmittel berechnet. Ohne die Verwendung des internen Standards liegt die relative Standardabweichung (RSD) der Intensitäten zwischen 3,6 % (Gd-BT-DO3A) und 4,6 % (Gd-DTPA) mit einem Durchschnitt von 4,0 % (Tabelle 22). Wenn Pr-DOTA als interner Standard verwendet wird, so verbessert

sich die RSD auf 1,3 % (Gd-DOTA) und 2,4 % (Gd-DTPA-BMA), im Durchschnitt also auf 1,8 %. Die Abweichung zwischen den RSD der jeweiligen Gd-Kontrastmittel ist u.a. darauf zurückzuführen, dass der interne Standard eine andere Retentionszeit aufweist, als die Gd-Kontrastmittel und damit die Intensitätsschwankungen nicht vollständig ausgleichen kann.

Tabelle 22: Relative Standardabweichung (RSD) von fünf Gd-Kontrastmitteln, mit und ohne internen Standard (IS) Pr-DOTA.

RSD	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
Ohne IS	3,8 %	4,4 %	3,6 %	3,6 %	4,6 %
Mit IS	1,6 %	2,4 %	1,4 %	1,3 %	2,1 %

n = 7

Das gleiche Experiment wurde auch mit dem internen Standard Sm-DTPA durchgeführt. Hierbei verbesserten sich die RSD von 1,2 % (Gd-BT-DO3A) bis 2,2 % (Gd-DTPA-BMA), im Durchschnitt auf 1,6 % (Tabelle 23). Damit verbessern beide interne Standards (Pr-DOTA und Sm-DTPA) die relativen Standardabweichungen.

Tabelle 23: Relative Standardabweichung (RSD) von fünf Gd-Kontrastmitteln, mit und ohne den internen Standard (IS) Sm-DTPA.

RSD	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
Ohne IS	3,8 %	4,4 %	3,6 %	3,6 %	4,6 %
Mit IS	1,4 %	2,2 %	1,2 %	1,7 %	1,6 %

n = 7

Ebenso kann der interne Standard auch Variationen des Injektionsvolumens korrigieren. Dies soll zeigen, dass eine Volumenkorrektur der Probe möglich ist, die durch Schwankungen bei der Injektion oder z.B. durch Verdunstungseffekt der Probe hervorgerufen werden.

Dafür wurden verschiedene Injektionsvolumina untersucht (2,5; 5,0; 7,5; 10 µL). Aus den jeweiligen Messungen mit unterschiedlichen Injektionsvolumina wurden die Intensitäten der Kontrastmittel bestimmt und mittels internen Standards korrigiert. Damit ist es möglich die Originalintensität (5 µL Injektion) zu berechnen. Die Wiederfindung liegt bei 100–102 % bei der Verwendung von Pr-DOTA als internen Standards (Tabelle 24). Wird Sm-DTPA

verwendet, so liegt die Wiederfindung bei 99–100 % (Tabelle 25). Ebenso können auch Messungen vom Vortag mittels internen Standards angepasst werden. Hierbei wird eine Wiederfindung von 100–103 % erzielt (Tabelle 26). Die Reproduzierbarkeiten der Retentionszeiten der internen Standards liegen unter 0,5 %, sodass auch eine Retentionszeitkorrektur denkbar wäre. Die internen Standards zeigen gute Korrektoreigenschaften und können damit für die Speziesanalytik von Gd-Kontrastmittel auf der ZIC-cHILIC ICP-MS verwendet werden.

Tabelle 24: Variation des Injektionsvolumens, korrigiert durch den internen Standard Pr-DOTA im Vergleich zu 5 µL Injektionsvolumen (Messung von fünf Gd-Kontrastmittel).

Wiederfindung für korrigierte Intensität	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
2,5 µL Injektion	98 %	103 %	104 %	104 %	104 %
7,5 µL Injektion	100 %	98 %	100 %	98 %	98 %
10,0 µL Injektion	103 %	102 %	101 %	101 %	99 %
Durchschnitt	100 ± 3 %	101 ± 3 %	102 ± 2 %	101 ± 3%	100 ± 4%

Tabelle 25: Variation des Injektionsvolumens, korrigiert durch den internen Standard Sm-DTPA im Vergleich zu 5 µL Injektionsvolumen, für die Messung von fünf Gd-Kontrastmittel.

Wiederfindung für korrigierte Intensität	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
2,5 µL Injektion	97 %	102 %	103 %	103 %	104 %
7,5 µL Injektion	99 %	97 %	99 %	98 %	97 %
10,0 µL Injektion	100 %	99 %	98 %	98 %	96 %
Durchschnitt	99 ± 2 %	100 ± 3 %	100 ± 2 %	99 ± 3%	99 ± 4%

Tabelle 26: Anpassung der Intensitäten, mittels internen Standard, aus den Messungen vom Vortag.

Wiederfindung für die angepassten Intensitäten	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
Tag 1 /Tag 2 [ohne IS]	95 %	95 %	95 %	96 %	98 %
Tag 1 /Tag 2 [mit IS]	100 %	100 %	100 %	101 %	103 %

8.4 Anreicherungsverfahren für Gd-Kontrastmittel

8.4.1 Allgemeine Einleitung

Um Gd-Kontrastmittel in Umweltproben nachweisen zu können, ist in vielen Fällen eine Anreicherung notwendig bzw. wünschenswert, da die Konzentrationen häufig an den Bestimmungsgrenzen der Speziesanalytik liegen. In diesem Kapitel werden drei Methoden zur Anreicherung vorgestellt.

Dazu zählt die Möglichkeit der Anreicherung mittels Anreicherungsmaterialien, auf der die Gd-Kontrastmittel adsorbiert werden und über ein kleines Volumen eluiert werden können. Dies wird in Kapitel 8.4.3 für die Anreicherung auf Aktivkohle und in Kapitel 8.4.4 für die Anreicherung auf Anionenaustauschermaterial (SAX) beschrieben. Bei der SAX können selektiv die anionischen Gd-Kontrastmittel angereichert werden. Eine andere Methode ist das Einengen von Probenvolumen unter Erwärmung mit Hilfe eines IR-Strahlers. Dies wird im nächsten Kapitel (8.4.2) behandelt.

8.4.2 Anreicherung von Wasserproben mittels Verdampfung

Das Einengen von Probenvolumen durch Verdampfung mittels IR-Strahlers wurde bereits von *Raju et al.* [140] für Gd-Kontrastmittel in Oberflächenwasser angewandt, allerdings ist in dieser Studien nicht überprüft worden, ob es zu Verlusten von Gd-Kontrastmitteln während der Einengung der Lösung kommt oder ob Matrixeffekte einen Einfluss auf die ICP-MS Messung haben.

Um dies zu überprüfen, wurde eine wässrige Lösung, die mit Gd-Kontrastmittel gespickt wurde, 1 zu 50 eingengt. Anschließend wurden die Gd-Kontrastmittel Konzentrationen mittels Gd-Speziesanalytik (ZIC-cHILIC-ICP-MS) analysiert und mit der ursprünglichen Konzentration verglichen. Hier zeigte sich, dass 92–100 % der Gd-Kontrastmittelkonzentrationen wiedergefunden wurden (Tabelle 27). Bei der Einengung wurden lediglich Verluste bei Gd-BOPTA beobachtet, sodass eine reduzierte Wiederfindung von 92 % erzielt wurde, wobei unklar ist, warum ein Verlust auftritt. Somit ist eine Anreicherung von wässrigen Proben durch Volumeneinengung für Gd-Kontrastmittel möglich.

Tabelle 27: Vergleich von gespikter wässriger Lösung – vor und nach Volumeneinengung mittel IR-Licht (1 : 50).

	Gd- BOPTA	Gd-DTPA- BMA	Gd-BT- DO3A	Gd- DOTA	Gd- DTPA	Pr- DOTA
Wiederfindung nach Volumeneinengung	92 ± 5 %	98 ± 4 %	100 ± 4 %	100 ± 3 %	96 ± 4 %	100 ± 4 %
n = 3						

8.4.3 Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf Anionenaustauscher Material

Gd-Kontrastmittel sind hydrophile und polare Spezies, die in die Klassen der negativ-geladenen und der ungeladenen Gd-Kontrastmittel aufgeteilt werden können. Ziel dieser Anreicherung ist es, die geladenen Gd-Kontrastmittel aus wässriger Matrix abzutrennen und anzureichern. Dafür wurde ein SAX (engl. **strong anion exchange**) Material verwendet, und zwar ein starkes Anionenaustauscher-Material aus quartärem Ammonium modifizierten Silicat. Um das Material hinsichtlich seiner Anreicherungs-fähigkeit (Beladung) für Gd-Kontrastmittel zu untersuchen, wurde 50 ml Beladungslösung (je 10 µg Gd L⁻¹ der Kontrastmittel) über das SAX-Material (0,5 g) gegeben, aufgefangen und hinsichtlich der verbliebenen Gd-Kontrastmittel Konzentrationen analysiert. Für die Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-DOTA und Gd-BOPTA wird eine Beladung von 99–100 % berechnet (Tabelle 28), somit findet eine vollständige Beladung der Gd-Kontrastmitteln auf dem SAX Material statt. Die Beladungskapazität ist somit größer als 6,4 nmol Gd-Kontrastmittel pro g SAX und sollte damit ausreichend sein, um Gd-Kontrastmittel aus Oberflächen- und Trinkwasser anzureichern.

Tabelle 28: Beladung von Gd-Kontrastmitteln auf dem SAX-Material.

Gd-Kontrastmittel	Verbleib auf der Säule [%]
Gd-DTPA	99
Gd-DOTA	100
Gd-BOPTA	99

In den Experimenten wurde 50 mL Beladungslösung eingesetzt und die Kontrastmittel mit 5 mL eluiert, sodass sich ein Anreicherungsfaktor von zehn ergeben sollte. Für die Elution

wurde ein Eluent aus wässrigem Ammoniak (5 %ig) gewählt. Wird mit einer Flussrate von ca. 2 mL min^{-1} eluiert, so werden Elutionsausbeuten von 70–96 % erzielt. Da keine sofortige Gleichgewichtseinstellung bei der Elution erfolgt, wurde der Elutionsfluss reduziert. Die Elution erfolgte ohne zusätzlichen Druck, dies entspricht einem Fluss von ca. $100 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$, dabei wird eine vollständige Elution der Gd-Kontrastmittel von der Säule erzielt (Tabelle 29). Damit ist eine quantitative Anreicherung von Gd-Kontrastmittel auf SAX möglich. Der Einfluss von verschiedenen Matrices wurde nicht weiter untersucht.

Tabelle 29: Elutionsausbeute der geladenen Kontrastmitteln von SAX-Material / 5 mL Elutionsvolumen.

Elutionsausbeute [%]	Gd-BOPTA	Gd-DOTA	Gd-DTPA	Pr-DOTA
Mittelwert	$101 \pm 6 \%$	$93 \pm 5 \%$	$94 \pm 5 \%$	$97 \pm 4 \%$
Mittelwert mit IS	$104 \pm 2 \%$	$95 \pm 1 \%$	$97 \pm 1 \%$	

n = 6

Ebenfalls wurde die Beladung und Anreicherung mit hoher Konzentration (mg Gd mL^{-1} -Bereich) an Gd-Kontrastmitteln untersucht. Die Gd-Speziesanalytik wurde mittels RP-HPLC-UV durchgeführt, die für die schnelle Analyse von Gd-Kontrastmitteln in hohen Konzentrationen (mg mL^{-1} -Bereich) gut geeignet ist. Die Beladung liegt ebenfalls bei 100 %, die Elutionsausbeute wurde auf $99 \pm 4 \%$ bestimmt (Tabelle 30). Somit ist auch eine Anreicherung von Gd-DTPA im mg mL^{-1} Bereich möglich. Der Anreicherungsfaktor bei dieser Methode beträgt zehn. Die Beladungskapazität für Gd-DTPA ist größer als 0,64 mmol pro g SAX.

Tabelle 30: Beladungs- und Elutionsausbeute von Gd-DTPA auf SAX-Material.

Elutionsausbeute [%]	Gd-DTPA
Beladung	100 ± 1 %
Elutionsausbeute (mit 10 mL Eluent)	100 ± 3 %
Elutionsausbeute (mit 5 mL Eluent)	99 ± 4 %

n = 3

8.4.4 Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle

8.4.4.1 Beladung von Gd-Kontrastmitteln

Um diese Gd-Kontrastmittel in Umweltmatrizes nachweisen zu können, bedarf es wie bereits im vorigem Kapitel ausgeführt, teilweise Anreicherungstechniken. Hierbei ist es wichtig, dass die Gd-Kontrastmittel als Spezies bei der Anreicherung erhalten bleiben und nicht nur indirekt über die Gd-Gesamt-Konzentration bestimmt werden. Über die direkte Analyse der Gd-Spezies können dann konkreter Rückschlüsse über die Verbreitung und Abbau von Gd-Kontrastmitteln in der Umwelt getroffen werden. Wird hingegen nur die Gesamtkonzentration Gd betrachtet, lässt sich damit nur ein Zusammenhang zu anthropogenen eingetragenen Gd-Kontrastmitteln vermuten, aber nicht nachweisen.

Gd-Kontrastmittel sind hydrophile und polare Spezies und schwierig aus der wässrigen Matrix anzureichern, sodass diese nicht über gängige C8–18 Phasen angereichert werden können. Zudem gibt es ein breites Spektrum an Gd-Kontrastmitteln, aus offenkettigen und cyclischen Gd-Komplexen, sowie geladene und ungeladene Gd-Komplexe. Um dieses breite Speziesspektrum für die Anreicherung abzudecken, muss das Beladungsmaterial sehr allgemein formuliert sein. Als geeignetes Material wird hier Aktivkohle verwendet.

Um ein Material hinsichtlich seiner Anreicherungsfähigkeit für Gd-Kontrastmittel zu untersuchen, wird zunächst der Verbleib der Gd-Kontrastmittel auf dem Material untersucht. Dafür wird eine mit Gd-Kontrastmitteln gespikte, wässrige Lösung über das Anreicherungsmaterial gegeben und so mit den Kontrastmitteln beladen. Anschließend wird die wässrige Lösung wieder aufgefangen und hinsichtlich der verbliebenen Gd-Kontrastmittel-Konzentrationen analysiert. Erfolgt eine vollständige Abtrennung der Gd-Kontrastmittel aus der gespikten Lösung so beträgt die Beladungsquote 100 %.

Um die Beladung der Aktivkohle zu überprüfen, wurde zunächst eine Säulenkartusche mit Aktivkohle gefüllt und diese mit einer Gd-Kontrastmittellösung beladen. Hierbei wurden Beladungen von 95–97 % für alle Gd-Kontrastmittel berechnet (Tabelle 31).

Tabelle 31: Beladung von Gd-Kontrastmitteln (10 mL, 10 µg L⁻¹ Gd) auf 1 g Aktivkohle.

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
Beladung	96 ± 5 %	96 ± 5 %	97 ± 4 %	96 ± 5 %	95 ± 5 %

n = 12

Um eine noch bessere Beladung zu erzielen, kann die Aktivkohle auch direkt in die gespikete Probenlösung gegeben werden. Nach 20 min wurde die Lösung hinsichtlich der verbliebenden Gd-Kontrastmittel analysiert. Da keine Gd-Kontrastmittel mehr in der Lösung detektiert wurden, wird also eine vollständige Beladung (100 ± 0 %) für alle fünf Gd-Kontrastmitteln auf das Aktivkohlematerial erzielt (Tabelle 32). Zudem wurde die Beladbarkeit in Trinkwassermatrix untersucht. Hierbei wurde ebenfalls eine vollständige Beladung der Gd-Kontrastmittel analysiert. Ebenfalls wurde eine vollständige Beladung mit einer Salzmatrix von 2 g L⁻¹ sowie auch für 20 g L⁻¹ untersucht (Tabelle 32).

Bei einer Beladungszeit von 5 min wird noch keine vollständige Beladung erzielt, die Beladung beträgt zwischen 92–98 %. Wird hingegen eine Beladungszeit von 15 min gewählt, so ist eine vollständige Beladung möglich. Für weitere Experimente wurde eine Beladungszeit von mindestens 20 min gewählt.

Tabelle 32: Beladung von Gd-Kontrastmitteln (je 5 µg Gd L⁻¹) aus 50 mL, auf 0,5 g Aktivkohle – Variation der Matrix.

Matrix	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA	Pr-DOTA
Trinkwasser						
Berlin Adlershof (n=3)	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
2 g L ⁻¹ NaCl (n=2)	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
20 g L ⁻¹ NaCl (n=3)	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Tabelle 33: Beladung von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle, Variation der Beladungszeit.

Beladungszeit	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
5 min	98 %	93 %	97 %	92 %	97 %
15 min	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
25 min	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

n = 1 (5min); n =3 (15, 25min)

Um zu bestimmen wie viel Aktivkohle für die Beladung der Gd-Kontrastmittel benötigt wird, wurde die Menge an Aktivkohle variiert (50 mg–1 g). Hierbei zeigt sich, dass 0,5 g Aktivkohle ausreichend ist, um eine vollständige Beladung aus 50 mL zu gewährleisten (Tabelle 34). Selbst mit nur 50 mg Aktivkohle wird immer noch eine Beladung von 84–90 % erzielt. Damit beträgt die Beladungskapazität 12,7 μmol Gd-Kontrastmittel pro g Aktivkohle.

Tabelle 34: Beladung auf Aktivkohle in Abhängigkeit zur verwendeten Aktivkohlemenge (körniges AC, 50 mL, 10 μg Gd L⁻¹ je Gd-Kontrastmittel).

Aktivkohlemenge	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
1,00 g	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
0,75 g	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
0,50 g	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
0,25 g	100 %	100 %	98 %	100 %	100 %
0,10 g	99 %	92 %	94 %	92 %	99 %
0,05 g	84 %	84 %	85 %	84 %	90 %

Wird die Lösung mit der beladenen Aktivkohle kurz stehen gelassen (5 min), damit sich die Aktivkohle am Boden absetzt und anschließend, ohne vorige Filtration analysiert, so können in dieser unfiltrierten Lösung 60–80 % der ursprünglichen Gd-Kontrastmittel Konzentrationen wiedergefunden werden. Dies spricht dafür, dass die Gd-Kontrastmittel vor allem an die feineren Partikel aus der Aktivkohle binden, die sich noch nicht am Boden abgesetzt haben. Dies lässt sich ausnutzen, um Gd-Kontrastmittel aus größeren Volumina auf weniger Aktivkohlematerial anzureichern. Deswegen wurde in weiteren Untersuchungen gemörserte Aktivkohle verwendet. Um eine vollständige Abtrennung von Aktivkohle und Beladungslösung zu erzielen, um somit später eine vollständige Elution der Gd-Kontrastmittel von dem Material zu ermöglichen, sollte ein μm -Membranfilter verwendet werden, um auch kleine Aktivkohleschwebeteilchen mit abzufiltrieren. Um die

Leistungsfähigkeit der gemörserten Aktivkohle zu untersuchen, wurde 1 g Aktivkohle in 1 Liter Kontrastmittellösung gegeben und der zeitliche Verlauf der Beladung beobachtet. Die Speziesanalytik zeigt, dass schon nach 30 min 99–100 % der Gd-Kontrastmittel aus der Lösung entfernt wurden (Tabelle 35). Nach spätestens 20 h kann kein Gd-Kontrastmittel mittels HPLC-ICP-MS Speziesanalytik mehr in der Beladungslösung nachgewiesen werden, sodass von einer vollständigen Beladung ausgegangen wird.

Tabelle 35: Beladung von Gd Kontrastmitteln aus 1 L gespiktem Wasser ($10 \mu\text{g L}^{-1}$ Gd Kontrastmittel).

Beladungszeit	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
5 min	100 %	94 %	97 %	98 %	100 %
15 min	99 %	98 %	98 %	97 %	100 %
30 min	100 %	100 %	100 %	99 %	100 %
20 h	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
93 h	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

8.4.4.2 Elution von Gd-Kontrastmitteln

Nachdem gezeigt wurde, dass eine quantitative Beladung der Gd-Kontrastmittel auf Aktivkohle erfolgt, wurde nun die Elution der Gd-Kontrastmittel vom Aktivkohlematerial untersucht.

Eine effektive Möglichkeit um das Gadolinium von der Aktivkohle zu eluieren, ist die Verwendung von 0,1 molarer HCl, hierbei wird eine Elutionsausbeute von 70–95 % erzielt. Allerdings wird hierbei das Gd, wie die Speziesanalytik zeigt, nur in dekomplexierter Form eluiert, sodass diese Technik nicht Spezies-konservierend ist. Um eine Dekomplexierung der Gd-Kontrastmittel zu vermeiden, wurden mildere Elutionsmittel verwendet. Am besten geeignet ist hierbei eine Mischung aus dem aprotischen, polaren Lösungsmittel Aceton und wässrigem Ammoniak. Elutionsmischungen aus polaren, protischen Lösungsmitteln wie Methanol oder Ethanol zeigen nur geringe Elutionswirkung (10–20 %). Aceton zeigte sich hingegen als geeigneter Hauptbestandteil der Elutionslösung und bewirkt die beste Elution bei einem Anteil von 30–50 vol% im Eluenten (Tabelle 36).

Der wässrige Ammoniakanteil ist wichtig für die Elution der negativ-geladenen Gd-Kontrastmittel (Gd-BOPTA, Gd-DOTA, Gd-DTPA). Wird kein Ammoniak verwendet, so wird

das zweifach geladene Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA nicht eluiert und Gd-DTPA nur zu 7 % eluiert (Tabelle 37). Die Elution des einfach geladenen Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA wird hingegen kaum beeinflusst. Hierbei ist zu beachten, dass die Optimierung des Eluenten noch nicht unter optimalen Bedingungen durchgeführt wurde, sodass keine vollständige Elution gemessen wurde. Allerdings zeigt die Optimierung den Trend, dass der Eluent aus Aceton : wässrigem Ammoniak (5 %ig) in der Mischung 1 : 1 eine geeignete Wahl darstellt. Mit der eben genannten Eluenten-Mischung können alle Gd-Kontrastmittel erfolgreich vom Aktivkohlematerial eluiert werden. Alle eluierten Gd-Kontrastmittel weisen bei der Speziesanalytik (HPLC-ICP-MS) die gleiche Retentionszeit auf wie die jeweiligen Kontrastmittelstandards, sodass von einer Gd-spezieserhaltenden Anreicherung gesprochen werden kann.

Tabelle 36: Elutionsausbeute bei der Variation des Acetonanteils im Eluenten.

Acetonanteil [Vol%]	Gd- BOPTA	Gd-DTPA- BMA	Gd-BT- DO3A	Gd- DOTA	Gd- DTPA	Pr- DOTA
90 %	41 %	21 %	17 %	31 %	23 %	38 %
70 %	52 %	36 %	46 %	58 %	51 %	59 %
50 %	57 %	46 %	54 %	61 %	56 %	64 %
30 %	57 %	47 %	51 %	64 %	59 %	67 %
10 %	15 %	25 %	12 %	57 %	71 %	57 %

Tabelle 37: Elutionsausbeute bei der Variation der Ammoniak-Konzentration im Eluenten (NH₃/Aceton 1:1).

Ammoniakkonzentration	Gd- BOPTA	Gd-DTPA- BMA	Gd-BT- DO3A	Gd- DOTA	Gd- DTPA	Pr- DOTA
0 %	0 %	50 %	60 %	52 %	7 %	69 %
0,1 %	44 %	56 %	52 %	62 %	49 %	79 %
1,0 %	59 %	47 %	53 %	70 %	57 %	85 %
2,5 %	53 %	43 %	51 %	60 %	48 %	79 %
5,0 %	68 %	42 %	58 %	68 %	54 %	86 %
10,0 %	68 %	45 %	53 %	60 %	48 %	79 %

Die Elutionsausbeuten liegen zwischen $69 \pm 1 \%$ (Gd-DTPA-BMA) und $91 \pm 10 \%$ (Gd-DTPA). Wird eine Korrektur mittels internen Standards (Pr-DOTA), der während der Anreicherung mitgeführt wurde, durchgeführt, so verbessert sich die Elutionsausbeute auf 94–98 % für Gd-DTPA, Gd-BOPTA, Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A (Tabelle 38). Die Elutionsausbeute für Gd-DTPA-BMA liegt bei 75 %.

Tabelle 38: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle (50 mL, Elution 10 mL 1:1 Mischung Aceton: 5 %ig NH_3); korrigiert mit internen Standard (IS).

Elutions- Ausbeute [%]	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA	IS
Durchschnitt	$91 \pm 3 \%$	$69 \pm 1 \%$	$87 \pm 2 \%$	$88 \pm 2 \%$	$91 \pm 10 \%$	$92 \pm 1 \%$
mit IS	$98 \pm 2 \%$	$75 \pm 2 \%$	$94 \pm 1 \%$	$96 \pm 1 \%$	$98 \pm 10 \%$	

n = 3

Der Anreicherungsfaktor liegt hier bei $f = 5$. Allerdings lässt sich der Anreicherungsfaktor deutlich verbessern, wie in Tabelle 35 (Kapitel 8.4.4.1) gezeigt wurde. Hierbei wurde die Beladung aus 1 Liter, statt 50 mL durchgeführt. Damit ergibt sich ein theoretischer Anreicherungsfaktor von 1 : 100. Eine weitere Möglichkeit den Anreicherungsfaktor zu erhöhen, ist die Elutionslösung mittels IR-Licht einzuengen (vgl. Kapitel 8.4). Die Speziesanalytik zeigt, dass nach der Einengung der Elutionslösung für die Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-BOPTA, Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A die Elutionsausbeute auf 91–100 % berechnet wird (Tabelle 39). Lediglich die relativ labile Gd-Spezies Gd-DTPA-BMA geht hierbei zu 50 % verloren. Der Anreicherungsfaktor nach der Volumeneinengung liegt bei 1 : 125.

Tabelle 39: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln nach Einengung des Eluenten ($f = 125$).

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
Elutionsausbeute	91 %	32 %	92 %	100 %	93 %

Das ungeladenen, offenkettige Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA-BMA besitzt die geringste Stabilitätskonstante ($\log K_{\text{therm}} = 15,8$) von allen Gd-Kontrastmitteln, dies könnte den Verlust dieser Gd-Spezies auf dem Aktivkohlematerial erklären. So kommt es sehr wahrscheinlich zu Transmetallierungs- und Dekomplexierungsprozessen. Je länger dieses Gd-Kontrastmittel mit dem Aktivkohlematerial in Kontakt ist, umso niedriger sind die

anschließenden Elutionsausbeuten. So tritt ein Verlust von 30–60 % schon nach 24 h auf. Nach einigen Tagen ist die Detektion des Gd-Komplexes teilweise nicht mehr möglich. Ebenso führt die Lagerung des Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA-BMA im Anreicherungseluente nach einigen Tagen zum vollständigen Verlust der Gd-Spezies. Wird die Probe am Tag der Präparation gemessen, so stellt dies kein Problem dar. In Anbetracht der geringen Stabilität dieses Gd-Kontrastmittels ist zu erwarten, dass diese Gd-Spezies in Umweltkompartimenten sehr schnell abgebaut wird und sich somit der Gd-Speziation in Umweltproben entzieht. Dafür spricht ebenfalls, dass dieses Kontrastmittel noch in keiner Umweltprobe gefunden wurde, allerdings liegen keine verlässlichen Zahlen vor, wie oft dieses Kontrastmittel in der klinischen Anwendung in Berlin zum Einsatz kommt.

Um dennoch eine quantitative Anreicherung des relativ labilen Gd-Kontrastmittels zu erzielen, muss die Kontaktzeit von Gd-DTPA-BMA mit dem Aktivkohlematerial, sowie mit dem Eluente möglichst gering gehalten werden. Dies wurde erzielt, durch ein feineres Aktivkohlepulver. Die Spezies-Analyse des Anreicherungseluente erfolgt spätestens 2 h nach der Elution, um Verlust von Gd-DTPA-BMA zu verhindern. Hierbei konnten $100 \pm 2 \%$ aller Gd-Kontrastmittel angereichert und eluiert werden (Tabelle 40). Während der Anreicherung wurde der interne Standard Pr-DOTA mitgeführt, um mögliche Verluste während des Anreicherungsverfahrens auszugleichen. Somit ist eine gleichzeitige quantitative Anreicherung aller fünf Gd-Kontrastmittel möglich.

Tabelle 40: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle (0,25 g Aktivkohlepulver, 50 mL, $10 \mu\text{g Gd L}^{-1}$, Elution 10 mL 1:1 Mischung Aceton: 5 %ig NH_3); korrigiert mit internen Standard (IS).

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA	IS
Elutionsausbeute	103 %	105 %	105 %	104 %	100 %	103 %
Elutionsausbeute mit IS	100 %	102 %	101 %	100 %	97 %	100 %

Die Methode wurde miniaturisiert, sodass statt 50 mL nur noch 15 mL Probenvolumen verwendet wurde. Die Aktivkohlemenge wurde ebenfalls auf 0,10 g reduziert, um eine schnellere Filtration zu ermöglichen. Hierbei konnte ebenfalls eine vollständige Elution der

Gd-Kontrastmittel erzielt werden (Tabelle 41), somit kann auch ausgeschlossen werden, dass eine Dekomplexierung oder Metabolisierung während der Anreicherung stattfindet.

Tabelle 41: Elutionsausbeute von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle (0,10 g AC fein, 15 mL, 10 $\mu\text{g Gd L}^{-1}$, Elution 2 mL 1:1 Mischung Aceton: 5 %ig NH_3); korrigiert mit internen Standard.

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA
Elutionsausbeute	$99 \pm 1\%$	$98 \pm 5\%$	$102 \pm 2\%$	$96 \pm 4\%$	$102 \pm 9\%$

n = 3

Die Optimierung des benötigten Eluentenvolumens wurde ermittelt, indem das beladene Aktivkohlematerial zehnmal mit jeweils 0,5 mL eluiert wurde. Die Elutionsausbeuten sind jeweils als Summen mit den vorigen Elutionsausbeuten in Abbildung 26 dargestellt. Hierbei zeigt sich, dass mit >2 mL alle Gd-Kontrastmittel eluiert werden können. Geringe Abweichungen zu 100 % lassen sich erklären, durch die Aufsummierung der Einzelausbeuten, die durch niedrige aufgefangene Volumina zu hoher Abweichung führen kann.

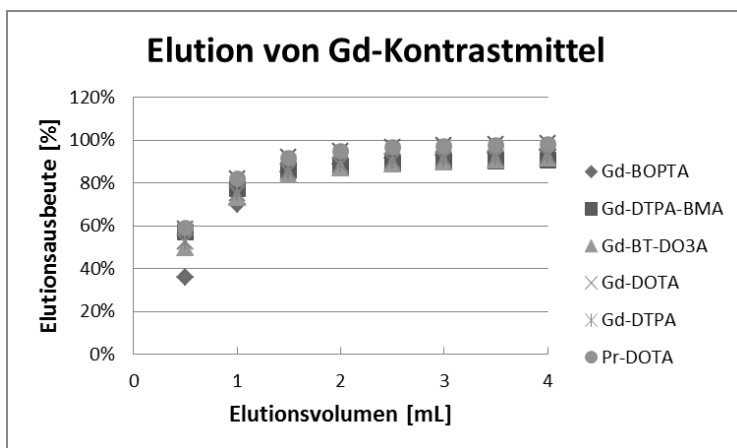


Abbildung 26: Elutionsausbeuten in Abhängigkeit des Elutionsvolumens.

Ein wichtiger Aspekt dieser Untersuchung ist das enorme Rückhaltevermögen der Aktivkohle von Gd-Kontrastmitteln. Diese könnte somit neben der Anreicherung für die Speziesanalytik, für eine Aufreinigung von Gd-Kontrastmitteln aus den Ausscheidungen der Patienten genutzt werden und damit auch als eine Recyclingmethode für Gadolinium.

Denkbar ist auch die Aufreinigung im technischen Maßstab in Klärwerkabwässern oder für die Trinkwasseraufarbeitung.

8.5 Optimierung der Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrizes

8.5.1 Optimierung der Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Umweltmatrizes

Da bereits Gadolinium-Kontrastmittel in Oberflächengewässern nachgewiesen wurden, ist es von Interesse, ob sich die Gd-Spezies in der Biota anreichern. Zum einen wurde der Gd-Gesamt-Gehalt in Umweltmatrizes, der Flora und Fauna, durch Aufschluss der Probe bestimmt, um Information über eine Gd-Anomalie zu erhalten. Zum anderen wurden aber auch die Gd-Kontrastmittel als jeweilige Spezies analysiert, um somit Information über die Verbreitung und dem Verbleib sowie den Abbau von Gd-Kontrastmitteln in Umweltmatrizes zu erhalten.

Hierbei soll die wässrige Extraktion der Probe mittels Ultraschall als Methode zur zerstörungsfreien Gd-Speziesextraktion hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit überprüft werden. Für die Ultraschallextraktion wurde getrocknetes Fischfilet (Brasse) mit dem Kontrastmittel Magnevist (Gd-DTPA) gespiked. Das Kontrastmittel wurde im mg mL^{-1} -Konzentrationsbereich verwendet. Die Gd-Spezies wurden mittels Ultraschallbad extrahiert. Die Extraktionsausbeute wurde als Quotient der gespiketen Gd-Konzentration und der gemessenen Gd-Konzentration im Extrakt bestimmt. Eine quantitative Analyse mittels HPLC-UV/VIS (Kapitel 8.3.4) ergibt eine Extraktionsausbeute für das Gd-Kontrastmittel Magnevist (Gd-DTPA) von $98 \pm 3 \%$ (Tabelle 42). Die gleiche Extraktion wurde mit diversem Landpflanzenmaterial wiederholt. Eine quantitative Analyse ergibt eine Extraktionsausbeute von Gd-DTPA von $102 \pm 3 \%$ (Tabelle 42). Somit wird gezeigt, dass eine vollständige Extraktion aus gespikten Umweltmatrizes (Pflanzen, Fisch) möglich ist. Sowohl in den Extrakten der Fischfiletmatrix als auch in der Pflanzenmatrix wurde keine Signal von freiem DTPA detektiert, sodass eine mögliche Dekomplexierung von Gd-DTPA ausgeschlossen werden kann. Um den Einfluss der Extraktionszeit zu untersuchen, wurde diese variiert. Sowohl bei 30 min, also auch bei 60 min und 90 min Extraktionszeit wurde eine vollständige Extraktion von Gd-DTPA (94–101 %) aus einer Fischfiletmatrix erzielt (Tabelle 43).

Typische RP-HPLC-Chromatogramme von Gd-DTPA aus Umweltmatrizes sind in Abbildung 27 dargestellt. Hierbei retendieren mehrere Matrixkomponenten in der ersten Minute, dies stört aber das Signal bei 1,56 min des Kontrastmittels Gd-DTPA nicht.

Tabelle 42: Extraktionsausbeuten von Gd-DTPA aus Fisch- und Pflanzenmatrix.

Matrix	Extraktionsausbeute
Matrix aus Fischfilet	98 ± 3 %
Matrix aus Pflanzenblättern	102 ± 3 %

n = 3

Tabelle 43: Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von der Extraktionszeit.

Extraktionszeit	Extraktionsausbeute
30 min	101 %
60 min	94 %
90 min	99 %

n = 1

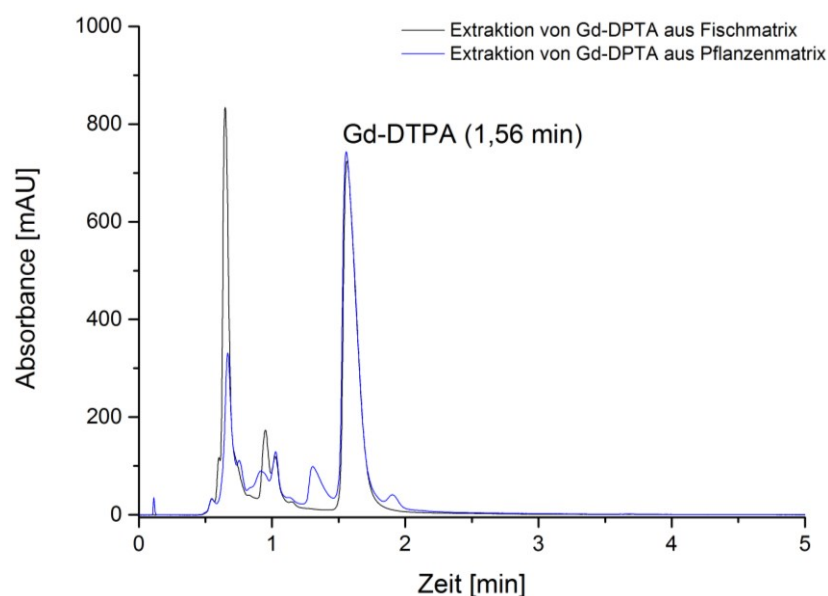


Abbildung 27: RP-HPLC-Chromatogramm: Extraktion des Gd-Kontrastmittels Gd-DTPA aus Fischfiletmatrix (schwarz) und Pflanzenmatrix (blau).

Nachdem gezeigt wurde, dass eine Extraktion von Gd-Kontrastmitteln in hohen Konzentrationen (mg mL^{-1}) aus Fisch- und Pflanzenmatrix durchgeführt werden kann, sollte

die Extraktion auch für niedrige Konzentration im sub-ng mL⁻¹ überprüft werden. Hierbei wurden die fünf Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA und Gd-DTPA, sowie der interne Standard Pr-DOTA, aus gespikter Fischfiletmatrix extrahiert. Für alle Gd-Kontrastmittel, außer Gd-DTPA-BMA, wurden Extraktionsausbeuten zwischen 93 und 96 % je nach Gd-Kontrastmittel erzielt. Wird der interne Standard verwendet, so erhöht sich die theoretische Extraktionsausbeute auf 97–100 % (Tabelle 44). Bei der Extraktion von Gd-DTPA-BMA tritt ein Verlust von 40 % auf. Die geringe Stabilität von Gd-DTPA-BMA ist auch in vielen anderen Experimenten schon aufgefallen. Zudem kann auch der Verlust des Gd-Kontrastmittels Gd-DTPA-BMA bei der Extraktion durch die Proteinfällung erklärt werden, wobei es dabei zur Mitfällung des Kontrastmittels kommen könnte. Die Fällung der Proteine wird durch das Acetonitril im HPLC-Eluent unterstützt. Um die Fällung auf der Säule zu verhindern, werde die Proben vor der Speziesanalyse 1 : 1 mit Acetonitril gemischt und anschließend filtriert.

Tabelle 44: Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus gespikter Fischfiletmatrix.

Fischmatrix	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA	Pr-DOTA
ohne IS	93 ± 6 %	56 ± 2 %	94 ± 6 %	93 ± 3 %	96 ± 6 %	96 ± 0 %
mit IS	97 ± 6 %	58 ± 2 %	98 ± 5 %	97 ± 3 %	100 ± 6 %	

n = 2

Bei der Extraktion von geringen Konzentration an Gd-Kontrastmitteln aus gespikten Pflanzenmaterial wurden Extraktionsausbeute von 93–102 % erzielt und diese sind damit vergleichbar mit der Extraktionsausbeute der Gd-Kontrastmittel aus Fischfiletmatrix (Tabelle 45). Die Ausnahme bildet Gd-DTPA-BMA, hierbei wurde nur eine Ausbeute von 25 ± 3 % erzielt, wie bereits zuvor schon diskutiert wurde.

Tabelle 45: Extraktionsausbeuten von Gd-Kontrastmitteln aus gespiktem Pflanzenmaterial (Ausbeuten wurde mittels internen Standard korrigiert).

	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	Gd-BT-D3OA	Gd-DOTA	Gd-DPTA
Extraktions- ausbeuten	94 ± 3 %	25 ± 3 %	101 ± 6 %	102 ± 5 %	93 ± 7 %

n = 3

Die ermittelten Werte der Extraktionsausbeuten der jeweiligen Kontrastmittel können nicht die wirkliche Extraktionsausbeute aus Umweltmatrizes widerspiegeln, da bei den Extraktionsexperimenten die Gd-Kontrastmittel nur hinzugegeben und nicht z.B. in die Fisch- bzw. Pflanzenzellen aufgenommen wurden. Allerdings sollte so gezeigt werden, ob die Matrizes einen Einfluss auf die Stabilität der Gd-Kontrastmittel bei der Extraktion hat.

8.5.2 Extraktion von Gd-Kontrastmittel aus Pflanzen (*Lepidium Sativum*)

Um eine Aufnahme und Anreicherung von Gadolinium-haltigen Kontrastmitteln in Pflanzen zu untersuchen, wurde exemplarisch für das Laborexperiment *Lepidium Sativum* (Gartenkresse) ausgewählt. Dieses Experiment wurde bereits in meiner Diplomarbeit begonnen [217]. Dabei sollte geklärt werden, ob es möglich ist, dass Pflanzen, die in Kontakt zu Oberflächengewässern stehen alle Gd-Kontrastmittel aufnehmen können.

Die Pflanzen (*Lepidium Sativum*) wurde in einer Nährlösung mit den jeweiligen Gd-Kontrastmitteln für 3–5 Tage gezüchtet. Hierbei zeigt sich, dass eine Aufnahme aller Gd-Kontrastmittel in die obersten Pflanzenteile erfolgte. Es wurde ein Anreicherungsfaktor (BCF) berechnet, wie von *Wild et al.* [220] beschrieben. Dies berechnet sich aus dem Quotienten des Gd-Gehaltes in der Pflanze (Nassgewicht) und der eingesetzten Gd-Konzentration der Nährlösung. Der bestimmte Anreicherungsfaktor von eins zeigt, dass die Pflanze keine Barriere besitzt, die die Aufnahme und Zirkulation des Gd-Komplex-Wassers verhinderte. Schon nach kurzer Zeit wurde das Wasser in der Pflanze komplett durch das kontrastmittelhaltige Wasser ausgetauscht. Um zu überprüfen, ob es sich bei dem aufgenommen Gadolinium um Gd-Kontrastmittel handelt oder um dekomplexiertes Gd^{3+} , wurde eine Ultraschallextraktion der Gd-Spezies aus dem Pflanzenmaterial durchgeführt. Die Gd-Spezies konservierende Extraktionsmethode für gespiktes Pflanzenmaterial ist im Kapitel 8.5.1 beschrieben.

Die Extraktionsausbeuten wurden bestimmt aus dem Quotienten der Gd-Kontrastmittelkonzentration in der Extraktionslösung und der Gd-Gesamt-Konzentration, der durch einen kompletten Mikrowellen-Aufschluss bestimmt wurde. Die Bestimmung der Gd-Kontrastmittelkonzentration in der Extraktionslösung wurde mittels Speziesanalytik mit ZIC-HILIC-ICP-MS (Kapitel 8.3) durchgeführt.

Die Extraktionsausbeuten für die Gd-Kontrastmittel, die von den Pflanzen aufgenommen wurden, betragen zwischen 54 % (Gd-BOPTA) und 106 % (Gd-BT-DO3A) und sind in Tabelle 46 aufgelistet. Dies zeigt, dass die wässrige Ultraschall-Extraktion für diese Anwendung sehr effektiv ist.

Anhand dessen kann bereits gezeigt werden, dass Pflanzen Gd-Kontrastmittel durch kontaminiertes Wasser aufnehmen und in die Blätter transportieren können und zwar ohne erkennbare Metabolisierung der Gd-Kontrastmittel.

Tabelle 46: Ausbeuten für die Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Pflanzen.

Gd-Kontrastmittel	Extraktionsausbeute
Gd-DTPA	84 %
Gd-BOPTA	54 %
Gd-DOTA	84 %
Gd-BT-DO3A	106 %
Gd-DTPA-BMA	73 %

9 Ergebnisse (Anwendungen)

9.1 Einleitung der Ergebnisse

Nachdem im Kapitel 8 der Schwerpunkt auf der Methodenentwicklung und Optimierung lag, soll in diesem Kapitel die Anwendung dieser Methoden auf umweltrelevante Proben erfolgen und so der Eintrag und der Verbleib von Gd-Kontrastmitteln in die Umwelt verfolgt werden. Da Gd-Kontrastmittel über das urbane Abwasser in die Oberflächengewässer eingetragen wird, werden zunächst diese Oberflächengewässer analysiert. Zudem wird die Aufnahme von Gd-Kontrastmittel in Pflanzen an den Ufern dieser Oberflächengewässer und von Fischen untersucht. Um den Kreislauf von Gd-Kontrastmitteln zu vervollständigen, wird städtisches Trinkwasser auf Gd-Kontrastmittel hin untersucht.

9.2 Untersuchung von Oberflächenwasser

9.2.1 Gd Anomalie im Oberflächenwasser



Abbildung 28: Beprobungsort Teltowkanal, Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf.

Bei der Analyse von Oberflächenwasser ist vor allem die Bestimmung von Gd-Anomalien von Interesse, mit der anthropogenes Gadolinium identifiziert werden und auf Gd-Kontrastmittel hindeuten kann. Eine Gd-Anomalie im Oberflächenwasser kann in den meisten Fällen gut abgeschätzt werden, da die geologische Konzentration von Gadolinium meist unter 4 ng L^{-1} liegt. Zur genauen Überprüfung der Gd-Anomalie werden die Konzentrationen der Seltenen Erdmetalle analysiert und im Verhältnis mit der natürlichen

Verteilung dieser Elemente gesetzt und somit normalisiert. Am besten erforscht ist die Verteilung in dem Schiefer aus dem Post-Archaikum Erdzeitalter, dem „Post Archean Australian Shales“ (PAAS). Es hat sich gezeigt, dass über das PAAS eine Normalisierung sehr gut möglich ist (siehe Kapitel 6.6). Die auf PAAS normalisierten Konzentrationen der Seltenen Erden lassen sich nach *Formel 7* berechnen.

Formel 7: PAAS Normalisierung.

$$\text{Normalisierter Wert} = \frac{\text{Gehalt in der Probe}}{\text{PAAS Gehalt}}$$

Die normalisierten Gehalte werden dann, meist logarithmisch, gegen das jeweilige Elemente dargestellt. Liegt keine signifikante Seltene Erden Anomalie vor, so liegen alle normalisierten Gehalte im gleichen Bereich.

Wird Oberflächenwasser aus dem Teltowkanal analysiert, so wird für die Anomaliebestimmung die Abbildung 29 erhalten. Hierbei haben alle gemessenen Selten Erden die gleiche normierten Gehalte, die Ausnahme bildet hierbei Gadolinium. Wie bereits erwähnt, wird dies als Gd-Anomalie bezeichnet. Diese Anomalie zeigt, dass anthropogenes Gd in das Oberflächenwasser eingetragen wurde, sodass eine Gd-Speziesanalytik dieses Wassers von Interesse ist. Dies Speziesanalytik wird im nächsten Kapitel vorgestellt.

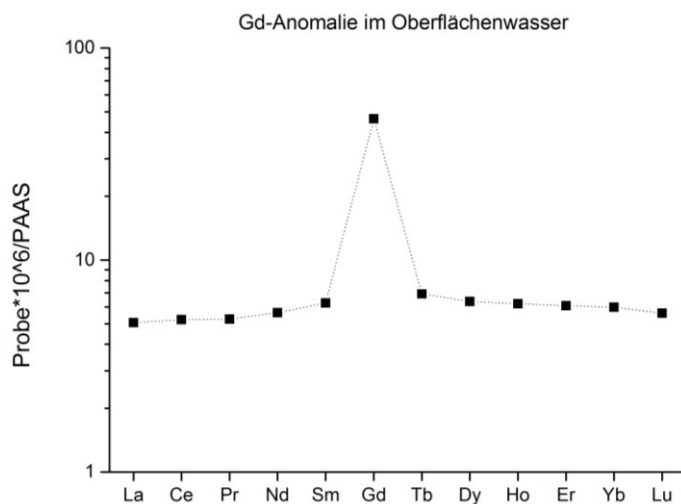


Abbildung 29: Gd-Anomalie im Oberflächenwasser des Teltowkanales (Nähe Stahnsdorf, bei Berlin).

9.2.2 Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser

Um eine Vorstellung über den Verbleib von Gd-Kontrastmitteln in Oberflächengewässern zu entwickeln, wurde die Verdünnung von Gd-MRT-Kontrastmitteln im Oberflächenwasser analysiert. Dies wurde anhand von Klärwerkwasser, das in den Teltowkanal (bei Berlin), eingeleitet wurde, realisiert. Der Teltowkanal ist ein geeignetes Modell für diese Untersuchung, weil die Flussgeschwindigkeit im Kanal kontrolliert und reguliert wird und es neben dem Eintrag des Klärwassers aus Stahnsdorf (bei Berlin) keinen weiteren nennenswerten Eintrag von Wasser gibt. Analysiert wurde das Kanalwasser vor und nach der Auslassstelle des Klärwerkes über eine Strecke von fünf Kilometern (flussabwärts). Die jeweiligen Gd-Gesamt-Konzentrationen wurden mittels ICP-MS analysiert. Das Ortsprofil der Gd-Konzentrationen ist in Abbildung 30 dargestellt.

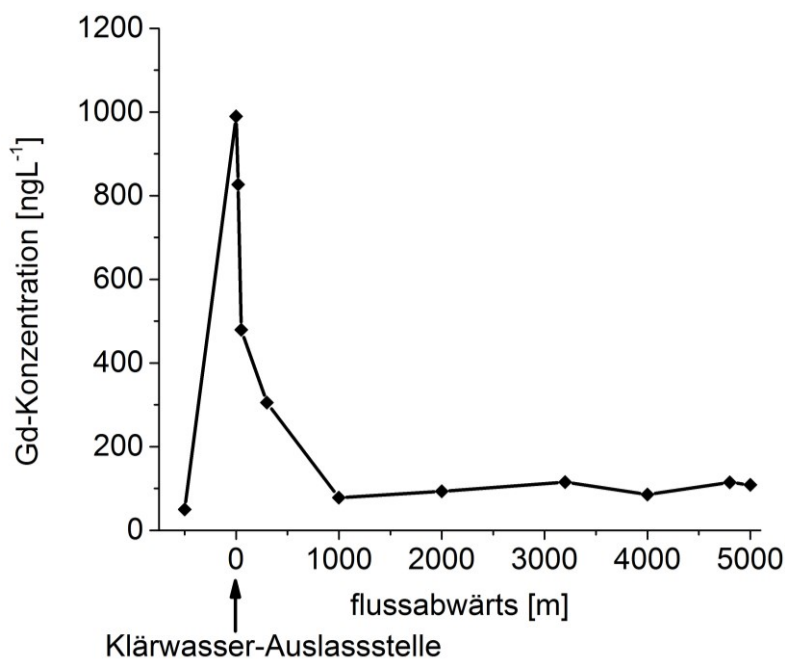


Abbildung 30: Ortsprofil der Gadolinium-Konzentrationen im Teltowkanal (Nähe Klärwerk-Auslassstelle Stahnsdorf, Oktober 2011)

Am Tag der Probenahme wurde die höchste Gd-Konzentration direkt an der Klärwerk-auslassstelle gemessen. Die Konzentration beträgt 990 ng L^{-1} , dies ist damit deutlich höher als der geologische Gd-Untergrund von wenigen ng L^{-1} (meist $< 4 \text{ ng L}^{-1}$) und führt zu einer hohen Gd Anomalie. Die Gd-Konzentration nimmt im ersten Kilometer flussabwärts ab und bleibt von Kilometer eins bis fünf bei einem konstanten Wert von $99 \pm 16 \text{ ng L}^{-1}$. Für den

Eintrag von 990 ng L^{-1} aus dem Klärwerk Stahnsdorf kann berechnet werden, wie hoch die zu erwartende Konzentration nach vollständiger Verdünnung im Teltowkanal ist. Der Abwassereintrag vom Klärwerk beträgt durchschnittlich 47.000 m^3 Wasser pro Tag [221,141]. Die Abflussrate im Teltowkanal (langjährigen Monatsmittel Okt) beträgt 561.000 m^3 Wasser pro Tag, wobei die Schwankung sehr ausgeprägt sein können [222]. So wurde beispielsweise Okt 2010 eine Abflussrate von 903.000 m^3 pro Tag bestimmt [222].

Somit ergibt sich, dass das Klärwerkswasser zum Zeitpunkt der Probenahme mit einem Faktor von ca. 11,9–19,2 verdünnt wurde. Somit wird, nach der Berechnung, eine Gd-Konzentration von ca. 52–83 ng Gd L^{-1} im Teltowkanal erwartet. Gemessen wurde eine durchschnittliche Gd-Konzentration von $99 \pm 16 \text{ ng L}^{-1}$. Damit liegt die bestimmte Gd-Konzentration im Rahmen der zu erwartenden Konzentration. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Gd-Spezies in den ersten Kilometern nach dem Eintrag in Oberflächengewässern gelöst bleiben und keine Sedimentierung stattfindet. Es wird vermutet, dass es sich bei der hohen Gd-Anomalie um Gd-basierte MRT-Kontrastmittel handelt. Um die Gd-Kontrastmittel nachzuweisen wurde eine Aufkonzentrierung, um den Faktor 1 : 20, mittels milder Einengung (Kapitel 8.4) durchgeführt. Anschließend wurde eine Speziesanalytik mittels ZIC-HILIC-ICP-MS (Kapitel 8.3) durchgeführt.

Ein Beispiel für ein Chromatogramm des Oberflächenwassers, das direkt an der Klärwerkauslassstelle entnommen wurde, ist in Abbildung 31 dargestellt. Zwei typische Gd-Kontrastmittel können hierbei identifiziert werden. Als Gd-Kontrastmittelspezies wurden die cyclischen Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A identifiziert, wobei Gd-DOTA eine minimale Retentionszeitverschiebung aufweist. Die gefundenen Gd-Spezies, sowie deren Konzentrationen, können von Tag zu Tag stark variieren und sind abhängig von dem Eintrag aus Krankenhäusern und Kliniken ins Klärwerk. Leider liegen über die Gd-Kontrastmittel-Verwendungen der jeweiligen Kliniken keine Informationen vor. In anderen Oberflächengewässern von Berlin wurden beispielsweise noch zusätzlich die Kontrastmittel Gd-BOPTA (Multihance) und Gd-DTPA (Magnevist) gefunden (Kapitel 9.3.2, Abbildung 47). Dies zeigt, dass diverse Gd-Kontrastmittel in Berliner Oberflächengewässern nachgewiesen werden können.

Die beiden gefundenen Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A haben an der Klärwerkauslassstelle eine Konzentration von 456 bzw. 471 ng L^{-1} . Flussabwärts nimmt die Konzentration beider Kontrastmittel auf ca. 65 ng L^{-1} ab (Tabelle 47).

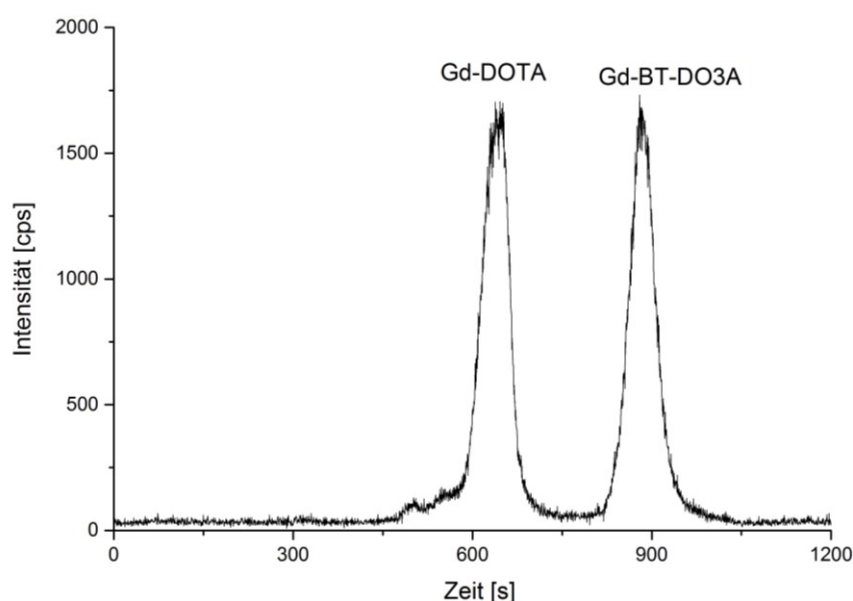


Abbildung 31: HPLC Chromatogramm (^{158}Gd) von Oberflächenwasser, vom Teltowkanal (Probenahme erfolgte direkt an der Klärwerkauslasssstelle); gefundene Gd-Spezies: Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A.

Tabelle 47: Gd-Spezies im Teltowkanal, Speziationsanalyse wurde nach Anreicherung (1 : 20) der jeweiligen Wasserprobe durchgeführt.

Distanz zur Klärwerkaus- lasssstelle	Gd-DOTA [ng L ⁻¹ Gd]	Gd-BT-DO3A [ng L ⁻¹ Gd]	Summe der Kontrastmittel [ng L ⁻¹ Gd]	Gesamt Gd- Konzentration (ICP-MS) [ng L ⁻¹ Gd]
-500 m	16	18	34	50
0 m	456	471	926	990
20 m	364	447	811	827
50 m	216	207	423	429
300 m	135	135	270	305
1,000 m	20	23	42	78
2,000 m	39	41	80	93
3,200 m	34	33	66	115
4,000 m	25	27	52	85
5,000 m	43	42	85	109

es erfolgten jeweils nur Einzelmessungen der Proben

Bei höheren Konzentrationen der Gd-Spezies bis einige hundert ng pro Liter Gd, kann eine externe Kalibrierung über wässrige Kontrastmittelstandards durchgeführt werden. Die Konzentration der beiden gefundenen Spezies Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A, die mittels ZIC-HILIC-ICP-MS bestimmt wurden, stimmen gut mit der gesamten Gd-Konzentration im

Oberflächenwasser überein, bei einer gerätebedingten RSD von 4–5 %. Bei niedrigeren Konzentrationen wurde die Übereinstimmung nicht erzielt. Dies kann zurückgeführt werden auf den Verlust von Feststoffteilchen durch die Filtration mit μm -Filtern oder auf Matrixeffekte vom Oberflächenwasser durch Erhöhung des Salzgehaltes beim Eindampfen. Die Matrix kann zusätzlich zu einer Ausfällung der Gd-Spezies bei der Aufkonzentrierung führen. Zudem ist auch eine Instabilität des RF-Generators im ICP-MS denkbar, dass zu Intensitätsschwankungen führt, da die Messung über einen sehr langen Zeitraum (8 h) durchgeführt wurde. Eine Möglichkeit um diesen Effekt in Zukunft zu minimieren, ist z.B. Verwendung von internen Standards (Kapitel 8.3.5), der erst später etabliert wurde oder der Durchführung von Standardadditionsverfahren zur Bestimmung der Konzentrationen. Die gemessene Gd-Konzentration von 34 ng L^{-1} vor der Klärwerkauslasssstelle (-500 m) lässt darauf schließen, dass Flussaufwärts ebenfalls Gd-Spezies ins Oberflächenwasser eingetragen werden. Eine mögliche Ursache könnte die ca. 8 km entfernte Auslasssstelle des Klärwerks Ruhleben sein.

Die Daten in Tabelle 47 zeigen, dass es keinen signifikanten Abbau oder Dekomplexierung von Gd-MRT-Kontrastmitteln über eine Distanz von fünf Kilometer flussabwärts von der Klärwerkauslasssstelle im Teltowkanal gibt, da keine zusätzlichen Peaks oder signifikanten Retentionszeitverschiebungen in den Chromatogrammen beobachtet wurden.

9.2.3 Anreicherung von Oberflächenwasser auf Aktivkohle

Da gezeigt wurde, dass die Anreicherungs-methode von Gd-Kontrastmitteln auf Aktivkohle erfolgreich ist (Kapitel 8.4.4), soll nun überprüft werden, ob die Anreicherungstechnik auch auf matrixbelastetes Wasser, wie Klär- und Oberflächenwasser, anwendbar ist. Dafür wurde Oberflächenwasser aus dem Teltowkanal Berlin-Adlershof verwendet. Die Belastung dieses Oberflächenwassers sollte sehr gering sein, da erst flussabwärts die Klärwerkeinlassstellen Ruhleben und Stahnsdorf sind (vgl. Abbildung 3, Kapitel 6.7). So wurde mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS Speziesanalytik kein Gd-Kontrastmittel gefunden. Wird die Probe jedoch um den Faktor 25 eingengt, so ist die Detektion der Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA möglich. Die eingengte Probe dient als Referenz um die Anreicherung von Gd-Kontrastmitteln aus Oberflächenwasser über Aktivkohle zu überprüfen. Hierbei wurde ebenfalls ein Anreicherungsfaktor von 25 gewählt. Ein Vergleich

der Speziesanalytik der eingegangenen Oberflächenwasserproben mit der über Aktivkohle angereicherten Probe zeigt, dass jeweils die identischen Gd-Kontrastmittel detektiert werden (Abbildung 32). Zudem werden über beide Methoden auch exakt die gleichen Gd-Konzentrationen bestimmt, wie Tabelle 48 zeigt. Die Konzentration für Gd-BT-DO3A beträgt bei der eingegangenen Probe $35,7 \pm 1,1 \text{ ng Gd L}^{-1}$ und für die Aktivkohleanreicherung $33,5 \pm 2,3 \text{ ng Gd L}^{-1}$, dies entspricht einer Originalkonzentration von $1,43$ bzw. $1,34 \text{ ng Gd L}^{-1}$ im Oberflächenwasser. Die Konzentration für Gd-DOTA beträgt $20,6 \pm 0,9 \text{ ng Gd L}^{-1}$ bzw. $21,0 \pm 1,4 \text{ ng Gd L}^{-1}$, dies entspricht einer Originalkonzentration von $0,82$ bzw. $0,84 \text{ ng Gd L}^{-1}$. Die Konzentration für Gd-BOPTA beträgt $10,7 \pm 0,1 \text{ ng Gd L}^{-1}$ für die eingegangene Probe; eine exakte Bestimmung über Aktivkohleanreicherung war nicht möglich, da es zu einer Überlagerung des Gd-BOPTA Signals mit einem Methodenartefakt kommt. Das Artefakt kann u.a. in der Kombination von freien Gd^{3+} mit wässrigem Ammoniak, das im Aktivkohleanreicherungs-eluenten enthalten ist und eine kurze Retention von Gd^{3+} auf der ZIC-cHILIC ermöglicht, auftreten. Das freie Gd^{3+} kann aus dem Oberflächenwasser stammen, sowie von der Aktivkohle, aber auch von Gadolinium, das auf der HPLC-Säule verblieben ist; dies wurde bereits im Kapitel 8.3.3 behandelt.

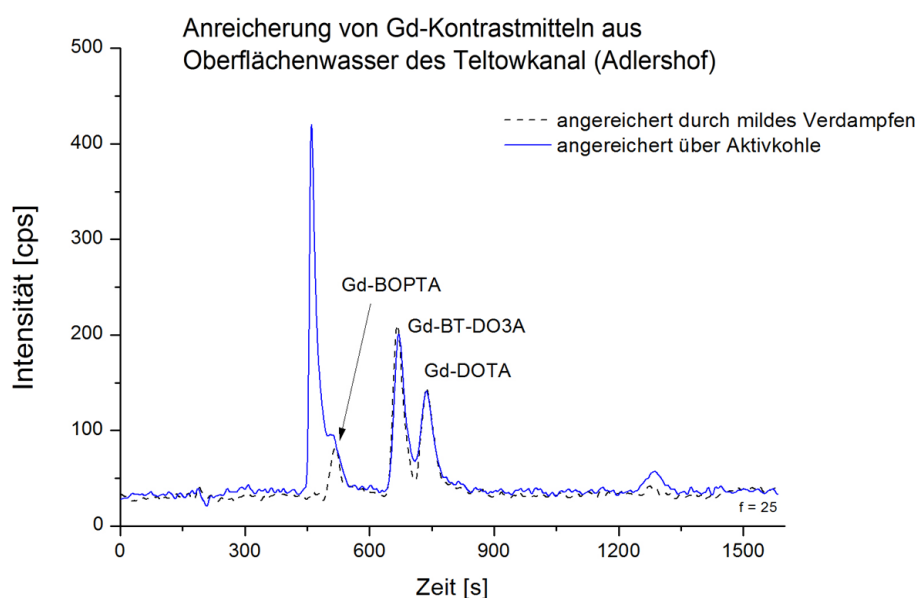


Abbildung 32: HPLC-Chromatogramm von Oberflächenwasser Teltowkanal Berlin-Adlershof. Probe wurde eingegangen über Verdampfung (schwarz), sowie angereichert über Aktivkohle (blau).

Tabelle 48: Bestimmung der Gd-Spezies im Teltowkanal Adlershof-Berlin nach Anreicherung (über Aktivkohleanreicherung und Volumeneinengung).

Konzentration nach Anreicherung f = 25	Gd-BOPTA [ng Gd L ⁻¹]	Gd-BT-DO3A [ng Gd L ⁻¹]	Gd-DOTA [ng Gd L ⁻¹]
Volumeneinengung	10,7 ± 0,1	35,7 ± 1,1	20,6 ± 0,9
Aktivkohleanreicherung	nicht bestimmt	33,5 ± 2,3	21,0 ± 1,4

n = 2

Damit wird gezeigt, dass eine Anreicherung von Oberflächenwasser möglich ist, lediglich die Bestimmung von Gd-BOPTA ist auf Grund eines Artefaktes nur eingeschränkt möglich. Eine vollständige Wiederfindungen der Anreicherung für die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA ist möglich. Somit stellt die Anreicherung über Aktivkohle eine geeignete Methode dar, um Gd-Kontrastmittel aus Oberflächenwasser in sehr geringen Konzentrationen ($\sim 1 \text{ ng Gd L}^{-1}$) für die Speziesanalytik anzureichern.

9.3 Untersuchung von Pflanzen

9.3.1 Gd Anomalie in Pflanzen



Abbildung 33: Beprobungsorte von Pflanzen am Ufer des Teltowkanals, Nähe Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf.

Um zu überprüfen, ob Pflanzen Gadolinium aufgenommen haben, wurden diverse Pflanzen, die im Boden in Ufernähe des Teltowkanals wuchsen, in der Nähe der Auslassstelle des Klärwerkes Stahnsdorf entnommen. Da es sich um eine Vorstudie handelt, wurde auf die genaue Bestimmung der Pflanzentypen verzichtet. Das Pflanzenmaterial wurde getrocknet, mittels Mikrowellen-Hochdruck-Aufschluss aufgeschlossen und anschließend mittels ICP-MS analysiert. Hierbei wurden die Konzentrationen der Seltenen Erden bestimmt, um eine mögliche Gd-Anomalie festzustellen. Zur Bestimmung der Gd-Anomalie wurden die Seltenen Erden auf die „Post Archean Australian Shales“ (PAAS) normalisiert. Die Normalisierung ist in Kapitel 9.2.1 beschrieben. Der normalisierte Wert wird berechnet aus dem Quotienten des Gehaltes in der Pflanze und dem PAAS-Gehalt.

Werden die Seltenen Erden-Gehalte aus Abbildung 34 betrachtet, so können lediglich kleine bzw. keine Gd-Anomalien festgestellt werden. Eine Gd-Speziesanalytik ist daher von Interesse um zu klären, ob Pflanzen über den Uferboden Gd-Kontrastmittel aus dem Oberflächenwasser aufnehmen.

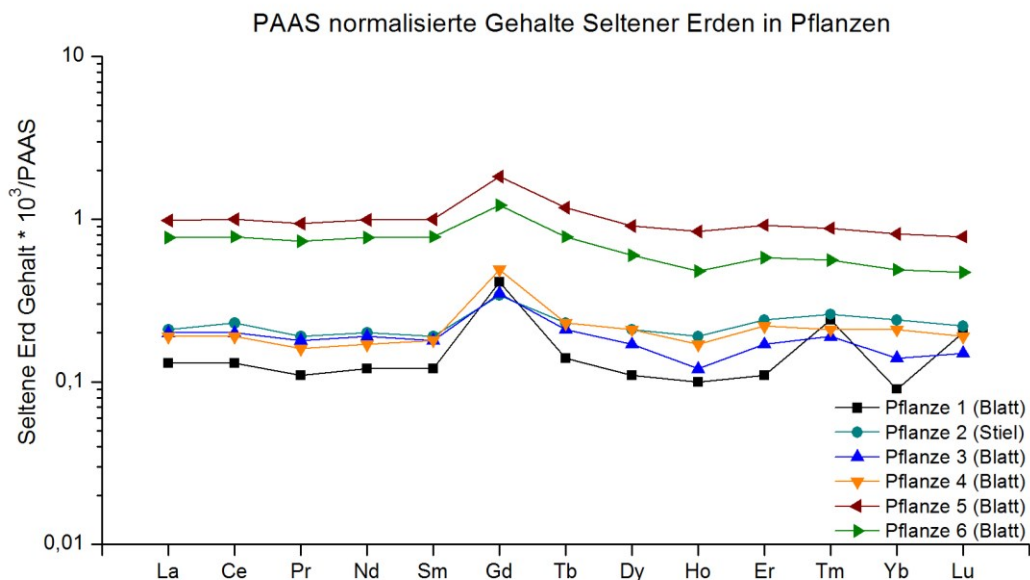


Abbildung 34: PAAS normalisierte Gehalte von Seltenen Erden in Pflanzen vom Ufer des Teltowkanals bei Stahnsdorf.

9.3.2 Gd-Kontrastmittel in Pflanzen in Klärwerkwasserumgebung

Die Pflanzen vom Ufer des Teltowkanals, Nähe Auslassstelle des Klärwerks Stahnsdorfs, wurden mittels Gd-Speziesanalytik (ZIC-cHILIC ICP-MS) analysiert. Hierfür wurden die Gd-Kontrastmittel, wie Kapitel 8.5 beschrieben, aus den Pflanzenproben extrahiert. Die Speziesanalytik zeigte, dass aus getrockneten Pflanzenproben nach einer dreijährigen Lagerzeit immer noch die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA nachgewiesen werden können, wie in Abbildung 35 gezeigt ist. Die Proben wurde zusammen mit den Oberflächenwasserproben (siehe Kapitel 9.2.2, Abbildung 31) im Oktober 2011 entnommen. Die in den Pflanzen gefundenen Gd-Kontrastmittel sind die gleichen, die auch im Oberflächenwasser gefunden wurden. Damit kann nicht nur gezeigt werden, dass eine Aufnahme von Gd-Kontrastmitteln in Pflanzen erfolgte, sondern auch dass diese über längere Zeiträume stabil sind, und über den Boden in Ufernähe transportiert wurden.

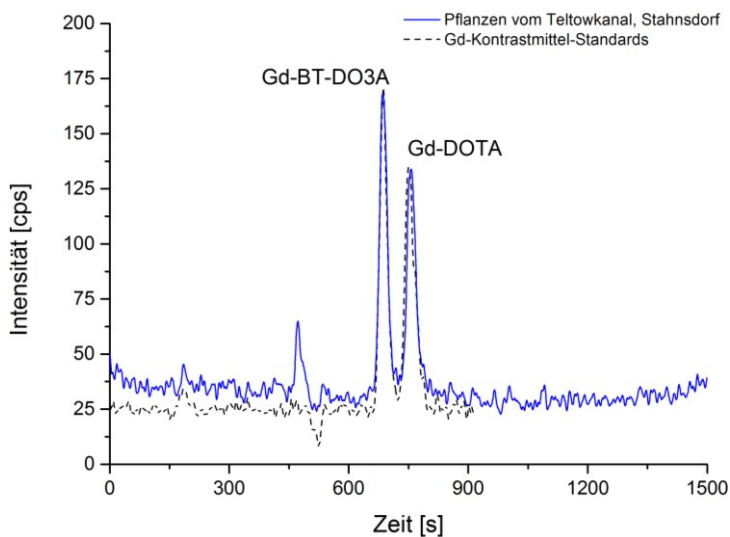


Abbildung 35: Gd-Kontrastmittel in Pflanzenproben vom Ufer des Teltowkanals, Nähe der Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf (blau); Gd-Kontrastmittel-Standards (schwarz).

Eine ausführliche Analyse von Gd-Kontrastmitteln in Pflanzen, die im Boden in Ufernähe des Teltowkanals wuchsen, erfolgte durch erneute Probenahme, in unmittelbarer Nähe zur Klärwerkauslassstelle (10 m bzw. 30 m Entfernung flussabwärts). Zum Vergleich wurden die Gd-Kontrastmittelkonzentrationen im Oberflächenwasser des Teltowkanals, an den beiden Entnahmestellen in Ufernähe, bestimmt und sind in Tabelle 49 aufgelistet. Hierbei wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA und Gd-DTPA im

Oberflächenwasser identifiziert (Abbildung 36). Die Gesamt-Gadoliniumkonzentration lag bei ca. 1150 ng Gd L⁻¹. Die Konzentrationen waren an beiden Entnahmestelle annähernd gleich.

Tabelle 49: Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser des Teltowkanals, an der Klärwerkauslasssstelle Stahnsdorf.

	Gd-BOPTA [ng Gd L ⁻¹]	Gd-BT-D3OA [ng Gd L ⁻¹]	Gd-DOTA [ng Gd L ⁻¹]	Gd-DPTA [ng Gd L ⁻¹]	Summe [ng Gd L ⁻¹]
Probenahmestelle 1	30,5 ± 0,3	810,2 ± 4,6	104,7 ± 1,0	197,7 ± 2,2	1143,1
Probenahmestelle 2	30,7 ± 0,7	838,6 ± 7,2	100,9 ± 0,9	202,8 ± 1,9	1173,0

n = 3

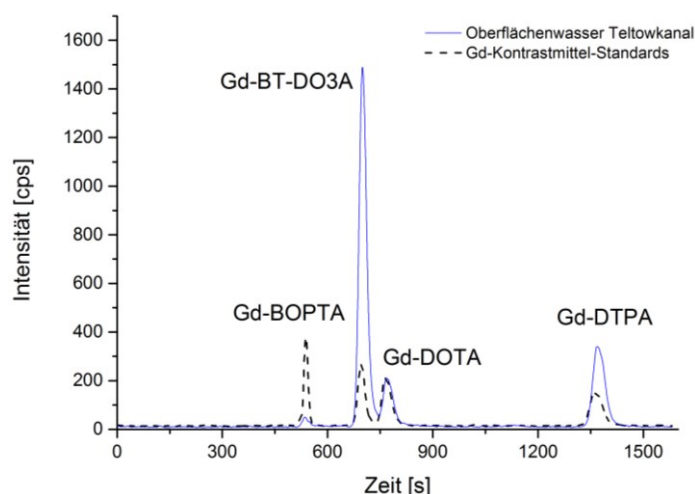


Abbildung 36: Gd-Kontrastmittel in Oberflächenwasser am Ort der Pflanzenentnahmestelle (blau), sowie der Vergleich der Retentionszeiten mit Gd-Kontrastmittel-Standards (schwarz).

Das Pflanzenmaterial vom Teltowkanal wurde getrocknet und die Gd-Kontrastmittel mittels Ultraschallbad-Extraktion extrahiert. Das Extrakte wurden anschließend 1 : 1 mit Acetonitril gemischt, sodass u.a. Proteine ausfallen und damit als Störfaktoren und für die HPLC-Analyse entfernt werden. Bei Vorexperimenten zur Pflanzenextraktion wurde hierbei kein signifikanter Verlust der Gd-Kontrastmittel, die auch im Oberflächenwasser detektiert wurden, festgestellt (vgl. Kapitel 8.5).

In den Pflanzen vom Ufer des Teltowkanals, Nähe der Auslasssstelle des Klärwerks Stahnsdorf, wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA und Gd-DTPA detektiert.

Allerdings sind die Art und der Gehalt der jeweiligen Gd-Kontrastmittel sehr unterschiedlich. Hierbei können Faktoren wie die Nähe der Pflanze zum Oberflächenwasser, sowie die Beschaffenheit des Sediments eine wichtige Rolle spielen.

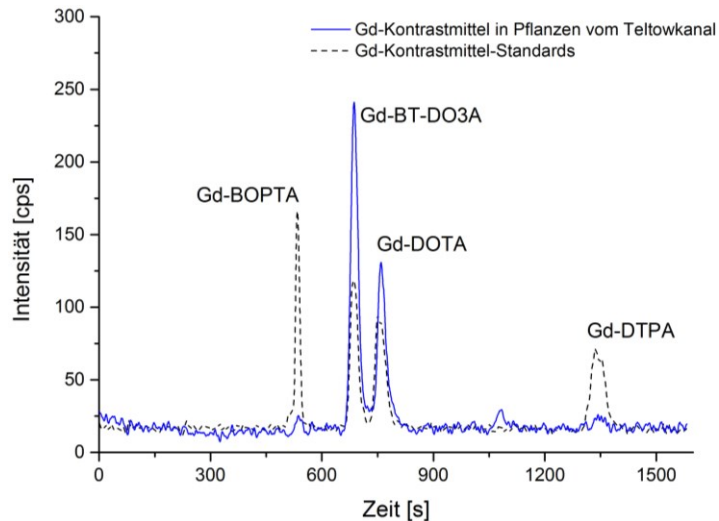


Abbildung 37: (blau) Gd-Kontrastmittel in Pflanzen vom Teltowkanal Stahnsdorf (Pflanze 4), sowie (schwarz) der Vergleich der Retentionszeiten mit Gd-Kontrastmittel-Standards.

Zudem kann eine Aufkonzentrierung des Oberflächenwassers im Sediment durch Verdunstung auftreten. Außerdem wird der jeweilige Pflanzentyp eine Rolle bei Aufnahme der Gd-Kontrastmittel in die jeweilige Pflanze spielen. Da es sich hierbei um Vorexperimente handelt, wurde auf eine Pflanzentypbestimmung verzichtet und den Pflanzen wurde jeweils nur eine Nummer zugewiesen. Die Pflanzentypbestimmung sollte aber in zukünftigen Messungen beachtet werden.

Die bestimmten Gehalte für die jeweiligen Gd-Kontrastmittel liegen zwischen 5 und 641 ng Gd pro kg Nassgewicht der Pflanze (Tabelle 50) für den ersten Entnahmeort und für den zweiten Probeentnahmeort zwischen 22–1599 ng Gd kg⁻¹. Von „Pflanze 4“ (Standort 1) wurden sowohl Wurzeln als auch Stiel und Blätter entnommen. Hierbei zeigte sich, dass in den Blättern (Abbildung 37) ein erhöhter Gehalt der Gd-Kontrastmittel um den Faktor 14 gegenüber den Wurzeln enthalten ist. Im Stiel wurden die niedrigsten Gehalte gefunden. Dies stimmt auch gut mit der Beobachtung aus Laborexperimenten mit Kressepflanzen überein, wonach die höchsten Gehalte in den Blättern gefunden wurden [223]. Allerdings hat die Bestimmung des Gehaltes in den Wurzeln nur eine geringe Aussagekraft, da nur eine grobe Reinigung des Wurzelmaterials stattgefunden hat, um das Material nicht zu

beschädigen. Somit kann eine Adsorption der Gd-Kontrastmittel an den Wurzelaußenwänden, bzw. in Sedimentresten an den Wurzeln nicht ausgeschlossen werden. So wurde beispielsweise am Standort 2 in den Wurzeln von „Pflanze 8“ sehr hohe Konzentrationen des Gd-Kontrastmittels Gd-BT-DO3A gefunden.

Die Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus Pflanzen in der Nähe der Klärwerkauslasssstelle zeigt, dass Gd-Kontrastmitteln in Pflanzen unter natürlichen Bedingungen aufgenommen werden. Es konnten in über der Hälfte aller entnommenen Pflanzenproben Gd-Kontrastmittel nachgewiesen werden. Die sollte in Zukunft näher untersucht werden und dabei speziell auf den Pflanzentyp und –größe (Wurzelausdehnung) geachtet werden, zusätzlich sollte der Bodentyp und die Verfügbarkeit von Oberflächenwasser bestimmt werden, sowie der Einfluss des Abstandes zum Ufer.

Tabelle 50: Gehalte der Gd-Kontrastmittel in Pflanzen am Standort 1 (10 m flussabwärts).

	Gd-Gehalt in Pflanze [ng pro kg Nassgewicht]			
	Gd-BT-D3OA	Gd-DOTA	Gd-DPTA	Summe
Blätter Pflanze 1	104 ± 34	-	65 ± 34	174
Blätter Pflanze 2	-	-	-	-
Blätter Pflanze 3	40 ± 11	69 ± 2	-	109
Blätter Pflanze 4	641 ± 28	409 ± 12	-	1050
Stiel Pflanze 4	10 ± 0	-	-	10
Wurzel Pflanze 4	45 ± 3	30 ± 8	-	75
Blätter Pflanze 5	123	95	-	218
Blätter Pflanze 6	-	-	-	-

n= 3 bzw. Pflanze 5: *n*=1.

Tabelle 51: Gehalt der Gd-Kontrastmittel in Pflanzen am Standort 2 (30 m flussabwärts).

	Gd-Gehalt in Pflanze [ng pro kg Nassgewicht]			
	Gd-BT-D3OA	Gd-DOTA	Gd-DPTA	Summe
Blätter Pflanze 7	-	-	-	-
Stiel Pflanze 7	-	-	-	-
Blätter Pflanze 8	-	-	965 ± 18	965
Stiel Pflanze 8	22 ± 1	-	-	22
Wurzel Pflanze 8	1599 ± 22	236 ± 19	357 ± 22	2191
Blätter Pflanze 9	432 ± 15	-	-	432
Blätter Pflanze 10	-	-	-	-

Blätter Pflanze 11	409 ± 10	-	-	409
Stiel Pflanze 11	93 ± 4	-	-	93
Blätter Pflanze 12	-	-	-	-

n = 3

Eine Zuordnung der Gd-Kontrastmittel war nicht in jeden Fall eindeutig möglich. So wurde bei einigen Pflanzenproben ein unbekanntes Signale bei ca. 1100 Sekunden Retentionszeit detektiert (Abbildung 38). Diese Retentionszeit kann keinem Gd-Kontrastmittel zugeordnet werden. Weitere Untersuchungen zeigten, dass dieses Signal auch bei Pflanzen vorkommt, die keiner hohen Gd-Kontrastmittelkonzentration ausgesetzt waren. Hierbei konnte gezeigt werden, dass dieses Signal auch in handelsüblicher Petersilie (*Petroselinum crispum*) detektiert werden kann. Eine Vermutung ist, dass es sich hierbei um Komplexbildner aus der Pflanze selbst handelt, die „freies“ Gd^{3+} von der Säule oder aus der Pflanzenumgebung binden können.

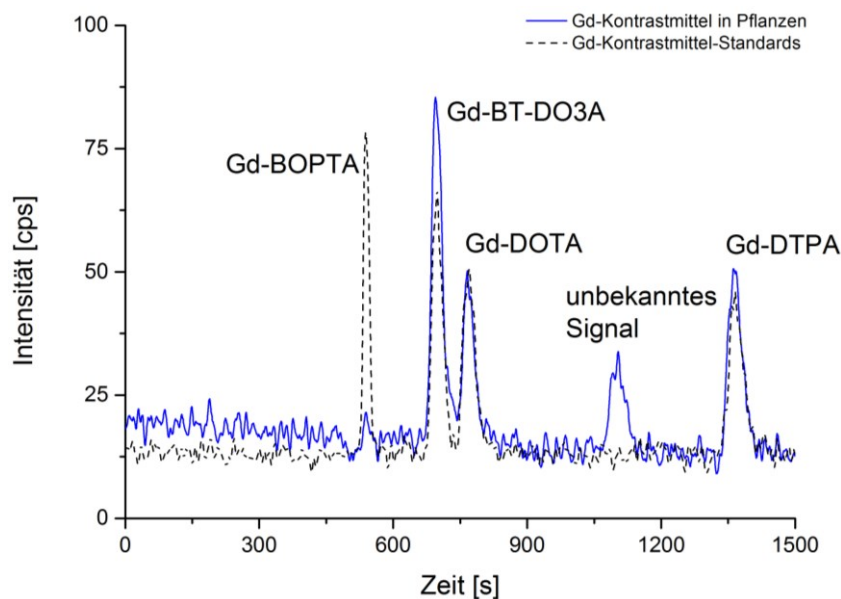


Abbildung 38: Gd-Kontrastmittel in Pflanzen (Blätter) vom Ufer des Teltowkanals, Nähe Klärwerkauslassstelle Stahnsdorf (blau), sowie der Vergleich der Retentionszeiten mit Gd-Kontrastmittel-Standards (schwarz).

Neben diesem Signal wurde in einigen Pflanzen ein Gd-Signal mit der Retentionszeit zwischen Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA gefunden. Diese Gd-Spezies konnte auch noch nach dem Eingeengen der Pflanzenextraktprobe detektiert werden, sodass es sich hierbei

wahrscheinlich um eine relativ stabile Spezies handelt (Abbildung 39). Eine Hypothese ist, dass es sich um das Gd-Kontrastmittel Gd-HP-DO3A (ProHance) handelt. Auf Grund der Struktur von ProHance ist zu erwarten, dass die Retention in der Nähe der Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA liegt. Allerdings wurde im Oberflächenwasser am Tag der Pflanzenprobennahme kein Gd-HP-DO3A gefunden und auch in früheren Analysen des Oberflächenwassers sind keine unbekannten Gd-Signale detektiert worden. Eine weitere Möglichkeit ist daher die Metabolisierung eines Gd-Kontrastmittels in der Pflanze. Die Variante, dass sich die Gd-Spezies erst durch die Aufarbeitungsschritte des Pflanzenmaterials gebildet haben, konnte durch Aufarbeitung von Blindproben bzw. mit Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A gespiktem Blindproben ausgeschlossen werden. Hierbei konnte kein unbekanntes Signal detektiert werden. Um welche Spezies es sich hierbei handelt, müsste in zukünftigen Analysen z.B. mittels ESI-MS geklärt werden.

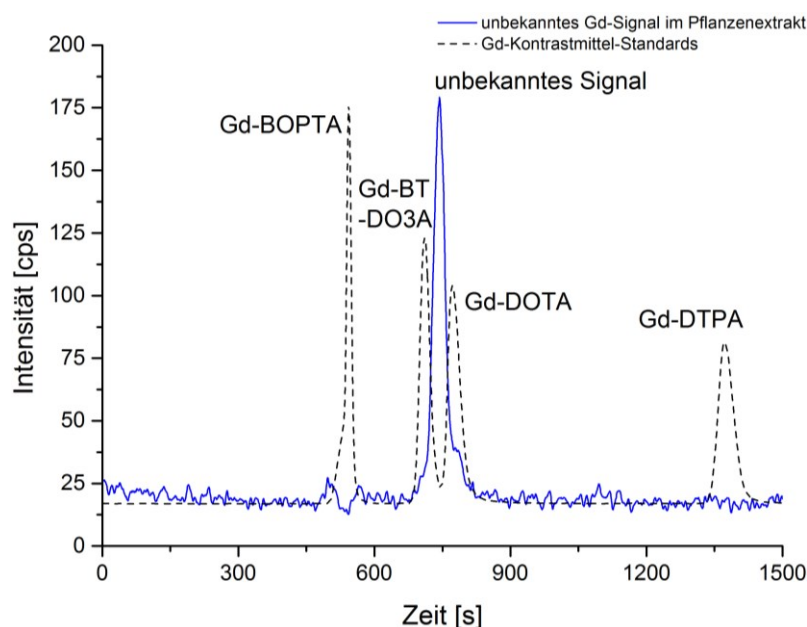


Abbildung 39: Unbekanntes Gd-Signal im Pflanzenextrakt (eingeengt) (blau), sowie der Vergleich der Retentionszeiten mit Gd-Kontrastmittel-Standards (schwarz).

9.4 Untersuchung von Fischen

9.4.1 Gd Anomalie in Fischen

Da im Oberflächenwasser von Berlin Gd-Kontrastmittel (im ng L^{-1} Bereich) gefunden wurden, ist es ein interessanter Aspekt, in wie weit Fische aus diesen Oberflächenwasser

Gadolinium akkumulieren. Dafür wurden zwei Fische der Gattung *Abramis brama* (Brasse), die aus dem Teltowkanal stammen, analysiert. Brassen gehören zu den typischen Fischen in Berliner Gewässern. Die Entnahmestelle der Fische liegt ca. 700 m flussaufwärts von der Einlassstelle des Klärwerks Stahnsdorf entfernt.



Abbildung 40: Fische aus dem Teltowkanal.

Wobei auch schon vor dem Klärwerk Stahnsdorf geklärtes Abwasser in den Teltowkanal geleitet wird, wie z.B. vom Klärwerk Ruhleben. Die Auslassstelle befindet sich ca. 7 km flussaufwärts von der Probenahmestelle entfernt.

Um zu überprüfen ob die Fische hohe Gehalte an Gadolinium aufgenommen haben, wurde die Fischproben in die Kategorien Filet, Haut, Gräten sowie innere Organe aufgeteilt und gefriergetrocknet und anschließend homogenisiert. Das Fischmaterial wurde mittels Mikrowellen-Hochdruck-Aufschluss aufgeschlossen und anschließend mittels ICP-MS analysiert. Zur Bestimmung der Gd-Anomalie wurden die Seltenen Erden auf die „Post Archean Australian Shales“ (PAAS) normalisiert, wie im vorigen Kapitel (9.3.1) beschrieben.

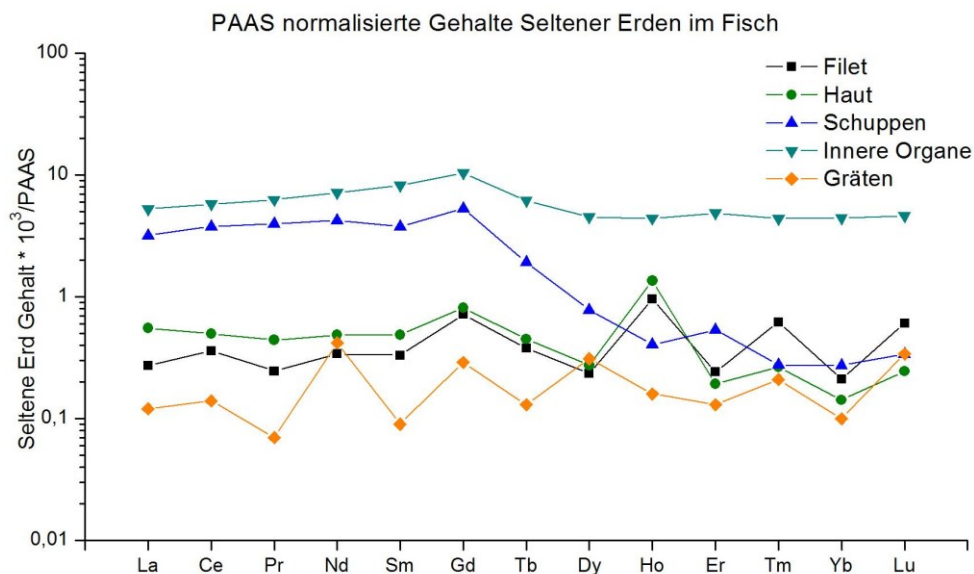


Abbildung 41: PAAS normalisierte Gehalte Seltener Erden einzelnen Bestandteilen vom Fisch des Teltowkanals bei Stahnsdorf.

Werden die Seltenen Erden-Gehalte aus Abbildung 41 betrachtet, so kann in keinem Teil des Fisches eine Gd-Anomalien festgestellt werden. Dies bedeutet, dass keine bzw. nur geringe Gd-Gehalte akkumuliert wurden. Dies schließt aber eine geringe Aufnahme von Gd-Kontrastmitteln nicht aus, sodass eine Gd-Speziesanalytik der Fischproben im nächsten Kapitel gezeigt wird.

9.4.2 Gd-Kontrastmittel in Fischen

Die Fische aus dem Teltowkanal, die im vorigen Kapitel (9.4.1) beschrieben wurden, wurden mittels Gd-Speziesanalytik (ZIC-cHILIC ICP-MS) analysiert. Die gefriergetrockneten Fischproben wurden dafür in die Kategorien Filet, Haut, Schuppen, Gräten, sowie innere Organe aufgeteilt. Anschließend erfolgte eine wässrige Ultraschallextraktion, wie in Kapitel 8.5 beschrieben. Die Extraktionslösungen wurden hinsichtlich der Gd-Spezies mittels ZIC-cHILIC-ICP-MS analysiert. Hierbei konnten geringe Menge an Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A in den inneren Organen beider Fische identifiziert werden (Abbildung 42). Die Gd-Gehalte der Kontrastmittel betragen je nach Fisch 68–81 ng Gd kg⁻¹ für Gd-BT-DO3A und 108–114 ng Gd kg⁻¹ für Gd-DOTA (Tabelle 52) bezogen auf das Trockengewicht der Fischprobe. Da die Proben über ein Jahr gelagert wurden, ist es nicht ausgeschlossen, dass die getrockneten Fischproben wieder Wasser aufgenommen haben könnten, welches zu einer hohen

Unsicherheit der Ergebnisse führen kann. Der Trocknungsfaktor der Fischinnereien beträgt $f = 3,5$.

Tabelle 52: Gd-Kontrastmittel in Fischinnereien.

Fischprobe	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA
	[ng Gd kg ⁻¹ Trockengewicht]	[ng Gd kg ⁻¹ Trockengewicht]
Brasse 1	80,8 ± 5,9	107,5 ± 4,3
Brasse 2	67,9 ± 0,4	113,8 ± 6,2

n = 2

Es ist möglich, dass die Fische die Gd-Kontrastmittel aus dem Oberflächenwasser über die Nahrung aufgenommen haben und das dadurch im Darmbereich Gd-Kontrastmittel detektiert werden können. Der Darmbereich gehört mit zur Mischprobe der inneren Organen. Die Gd-Konzentration des Oberflächenwasser am Tag der Probenahme betrug 234 ± 20 ng Gd L⁻¹ und liegt damit im Bereich der gefundenen Gd-Gehalte in den Fischinnereien. Im Fischfilet wurde hingegen kein Gd-Kontrastmittel gefunden, sodass keine Akkumulation der Gd-Kontrastmittel im Muskelgewebe des Fisches stattfindet.

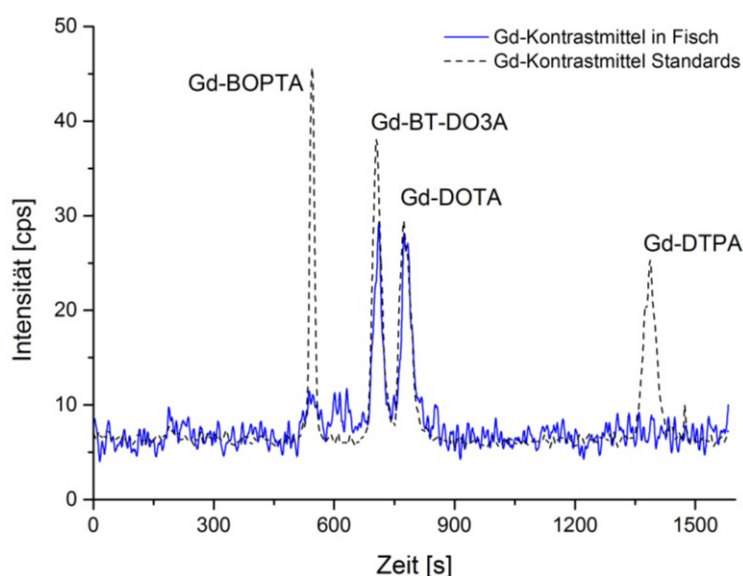


Abbildung 42: Extraktion von Gd-Kontrastmitteln aus einer Mischprobe aller inneren Organe des Fisches (blau), sowie der Vergleich der Retentionszeiten mit Gd-Kontrastmittelstandards (schwarz).

9.5 Untersuchung von Trinkwasser

9.5.1 Gd Anomalie im Trinkwasser

Neben der Gd-Anomalie im Oberflächenwasser, ist auch die Gd-Anomalie in Trinkwasser von Interesse. Hierbei wurden Trinkwasserproben aus dem Westteil von Berlin (Salzufer, Charlottenburg) hinsichtlich der Gd-Anomalie analysiert. Dabei wurde eine Gd-Anomalie festgestellt wie Abbildung 43 zeigt. Es wurde eine Gd-Konzentration von $44 \pm 3 \text{ ng Gd L}^{-1}$ gefunden. Die hohe anthropogene Gd-Konzentration lässt vermuten, dass es sich um Gd-Kontrastmittel oder metabolisierte Varianten handelt. Die Speziesanalytik von Berliner Trinkwasserproben wird im nächsten Kapitel (9.5.2) behandelt.

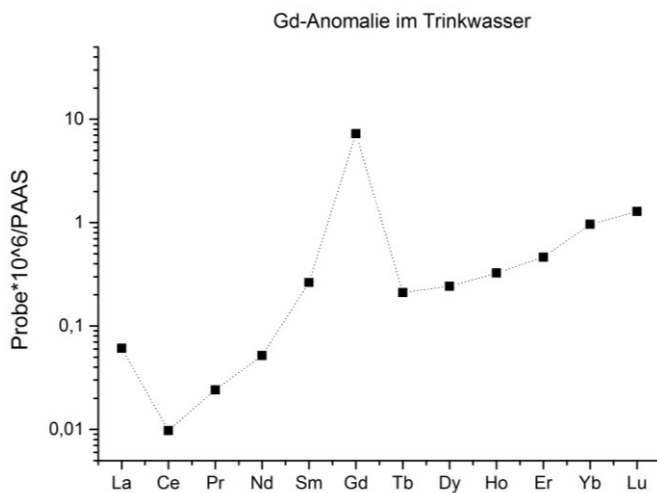


Abbildung 43: PAAS-Normalisierung zur Bestimmung von Selten Erden Anomalie. Hier: Gd Anomalie im Trinkwasser von Berlin-Salzufer.

9.5.2 Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser

Da Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser über einen längeren Zeitraum stabil bleiben, ist es nicht ausgeschlossen, dass die Gd-Kontrastmittel auch in das Trinkwasser gelangen können. In der Literatur wird diese Vermutung durch Gd-Anomalien im Trinkwasser unterstützt. Es wird angenommen, dass diese Gd-Anomalie von Gd-Kontrastmitteln im Trinkwasser stammt. Um diese Vermutung zu überprüfen, wurde eine Gd-Speziesanalytik von Trinkwasserproben mittels ZIC-cHILIC ICP-MS durchgeführt.

Es wurden Trinkwasserproben aus verschiedenen Regionen von Berlin und Umgebung, direkt aus den Wasserhähnen entnommen und analysiert. Hierbei wurden im Trinkwasser aus Berlin-Salzufer die drei Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA

gefunden (Abbildung 44). Die Konzentrationen betragen $10,3 \pm 0,1 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$, $15,4 \pm 0,6 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ sowie $16,8 \pm 0,8 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ (Tabelle 53). Zum Vergleich wurden die Trinkwasserproben mittels ICP-MS auf deren Gd-Gesamt-Konzentrationen analysiert. Dabei wurde für Berlin-Salzufer eine Gd-Gesamt-Konzentration von $44 \pm 3 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ bestimmt, sodass damit die gesamte Gd-Konzentration im Trinkwasser durch die drei Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA erklärt werden kann. Die Retentionszeiten der Gd-Spezies im Trinkwasser stimmen genau mit den Retentionszeiten von wässrigen Standards überein, dies kann ebenfalls über eine Standardaddition bestätigt werden.

Tabelle 53: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser von Berlin.

Trinkwasser probe Berlin	Gd-BOPTA [ng L ⁻¹ Gd]	Gd-BT- DO3A [ng L ⁻¹ Gd]	Gd-DOTA [ng L ⁻¹ Gd]	Gd-DTPA [ng L ⁻¹ Gd]	gesamt Gd in den Kontrastmitteln [ng L ⁻¹ Gd]	gesamt Gd im Trinkwasser [ng L ⁻¹ Gd]
Salzufer	$10,3 \pm 0,1$	$15,4 \pm 0,6$	$16,8 \pm 0,8$	-	$42,6 \pm 1,5$	44 ± 3
Westend	$11,7 \pm 0,1$	$17,6 \pm 0,3$	$19,2 \pm 1,4$	-	$48,5 \pm 1,8$	57 ± 1
Steglitz*	$0,6 \pm 0,1$	$3,6 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,1$	$7,6 \pm 0,7$	8 ± 1
Kreuzkölln	-	-	-	-	-	10 ± 1
Lichtenberg	-	-	-	-	-	7 ± 1
Adlershof	-	-	-	-	-	2 ± 0
Köpenick	-	-	-	-	-	2 ± 0
Karlshorst	-	-	-	-	-	1 ± 0
Oranienburg	-	-	-	-	-	1 ± 0
Hohen- schönhausen	-	-	-	-	-	1 ± 0
Altglienicke	-	-	-	-	-	1 ± 0
Waltersdorf	-	-	-	-	-	1 ± 0

n = 3; * Probe aus Steglitz wurde durch Einengung der Trinkwasserprobe f = 12,5 bestimmt.

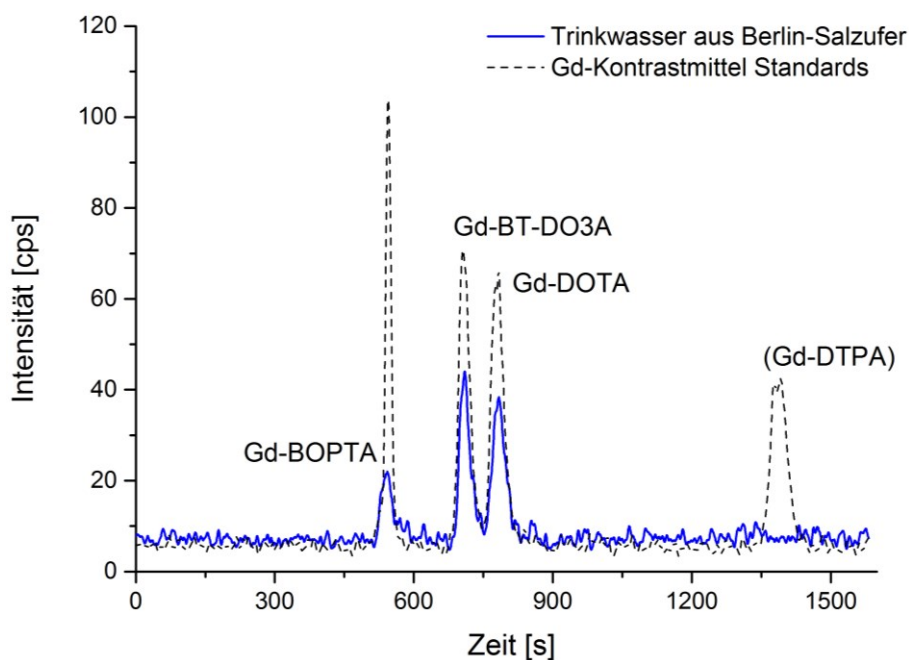


Abbildung 44: HPLC-ICP-MS Chromatogram (Gd) von Trinkwasser aus Berlin (blau) und der Gd-Kontrastmittel-Standards (schwarz-gestrichelt), sowie Blindwert (schwarz); gefundene Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA.

Im Trinkwasser von Berlin-Westend wurden ebenfalls die gleichen drei Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA gefunden, wie auch im Trinkwasser von Berlin-Salzufer. Die Konzentrationen der Gd-Spezies betragen $11,7 \pm 0,1 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ für Gd-BOPTA, $17,6 \pm 0,3 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ für Gd-BT-DO3A und $19,2 \pm 1,4 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ für Gd-DOTA. Die Gd-Gesamt-Konzentration im Trinkwasser von Berlin-Westend wurde auf $57 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$ bestimmt. Somit kann in der Trinkwasserprobe von Berlin-Westend recht gut die Gd-Gesamt-Konzentration zu 85 % als Summe der Gd-Kontrastmittel erklärt werden. Im Chromatogramm wurden keine unbekannten Gd-Spezies gefunden, weswegen vermutet wird, dass die Differenz zwischen der Gesamt-Gd-Konzentration und der Gd-Spezies unkomplexierten Gadoliniumionen (Gd^{3+}) zugeordnet werden kann. Außerdem ist es denkbar, dass das Gadolinium sich an kleine Partikel, Huminsäuren oder Proteinen anlagert und so durch Filtration oder Probenvorbereitung entfernt worden ist. Vor der Analyse wurden diverse Matrices mit Acetonitril aus der Probe ausgefällt und abfiltriert, damit diese Matrix nicht auf der HPLC Säule ausfällt. Hierbei kann eine teilweise Mitfällung von Gadoliniumionen und Gd-Kontrastmitteln nicht ausgeschlossen werden.

In den Trinkwasserproben von Berlin-Kreuzberg/Neukölln, Berlin-Lichtenberg wurden zwar erhöhte Gd-Konzentrationen gefunden, Gd-Kontrastmittel konnten hingegen nicht nachgewiesen werden. In Köpenick, Adlershof, Karlshorst, Oranienburg, Hohenschönhausen, Altglienicke und Waltersdorf wurden keine signifikanten Gd-Konzentrationen gefunden. Die Trinkwasserproben wurden zudem eingengt ($f = 12,5$) und erneut mittels ZIC-cHILIC ICP-MS analysiert. Hierbei wurden ebenfalls keine Gd-Kontrastmittel gefunden. In der eingengten Trinkwasserprobe aus Berlin-Steglitz konnten hingegen die Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A mit einer Gd-Konzentration von je 3 ng Gd L^{-1} nachgewiesen werden (Abbildung 45), sowie in geringeren Konzentrationen die Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA und Gd-DTPA mit $0,5 \text{ ng Gd L}^{-1}$. Es wurde über den Verlauf einer Woche jeden Tag eine Trinkwasserprobe aus Berlin-Steglitz genommen und analysiert (Abbildung 46). Hierbei zeigten sich keine signifikanten Änderungen der Gd-Kontrastmittelkonzentrationen als auch der Gesamt-Gd-Konzentrationen. Geringe Konzentrationsunterschiede können durch das Einengungsverfahren erklärt werden.

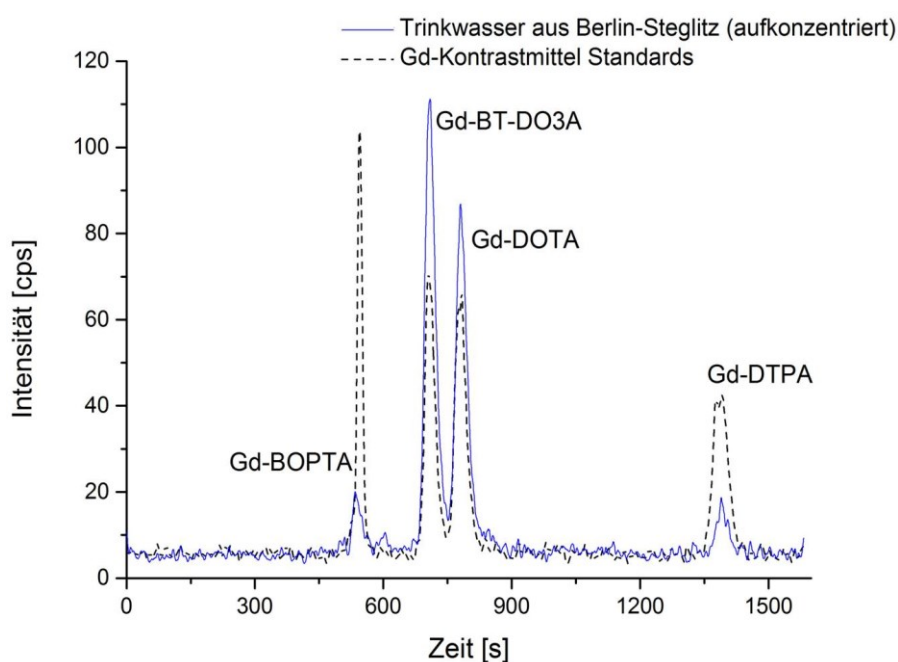


Abbildung 45: HPLC-Chromatogramm von Trinkwasser aus Berlin–Steglitz (aufkonzentriert).

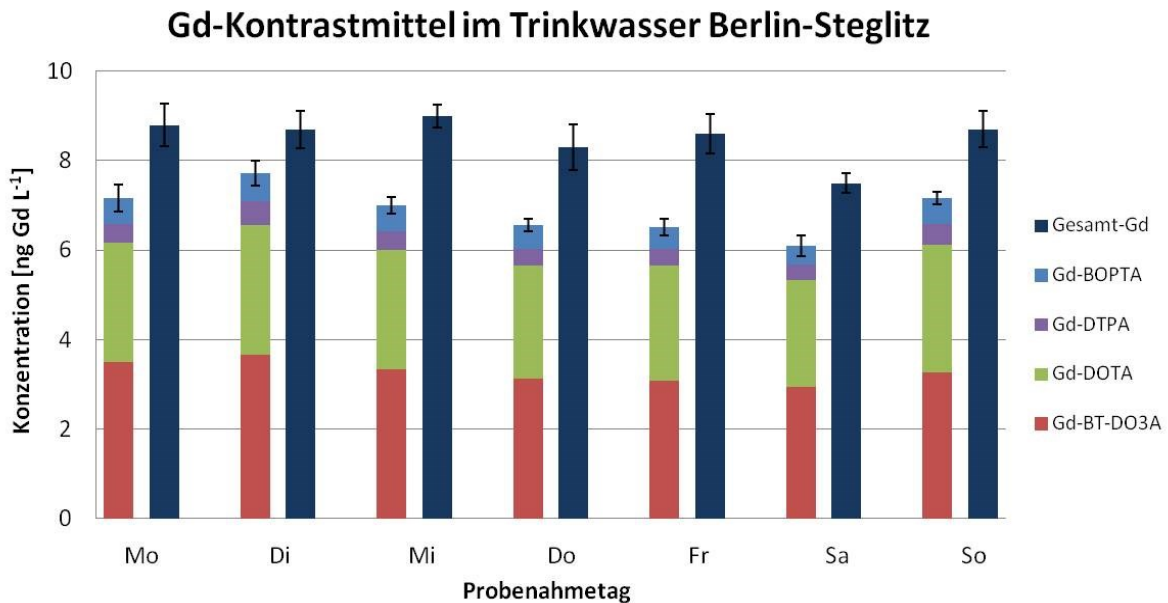


Abbildung 46: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser Berlin-Steglitz über einen Zeitraum von einer Woche.

Bei den Gd-Kontrastmitteln der Trinkwasserprobe aus Berlin-Steglitz handelt es sich um die gleichen Spezies die auch im Oberflächenwasser in der Nähe vom Wannsee, in dessen Nähe Trinkwasser gefördert wird, gefunden wurden (Abbildung 47). Die Gd-Konzentrationen für die Gd-Kontrastmittel in diesem Oberflächenwasser betragen $11,6 \pm 0,9$ ng Gd L⁻¹ für Gd-BOPTA, $78,0 \pm 2,0$ ng Gd L⁻¹ für Gd-BT-DO3A, $34,7 \pm 6,5$ ng Gd L⁻¹ für Gd-DOTA und $22,4 \pm 0,4$ ng Gd L⁻¹ für Gd-DTPA. Wobei zu beachten ist, dass sich die Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser auch stark von der Zusammensetzung im Oberflächenwasser unterscheiden können, da es einige Zeit dauert, bis die Gd-Kontrastmittel aus dem Oberflächenwasser ins Trinkwasser gelangen.

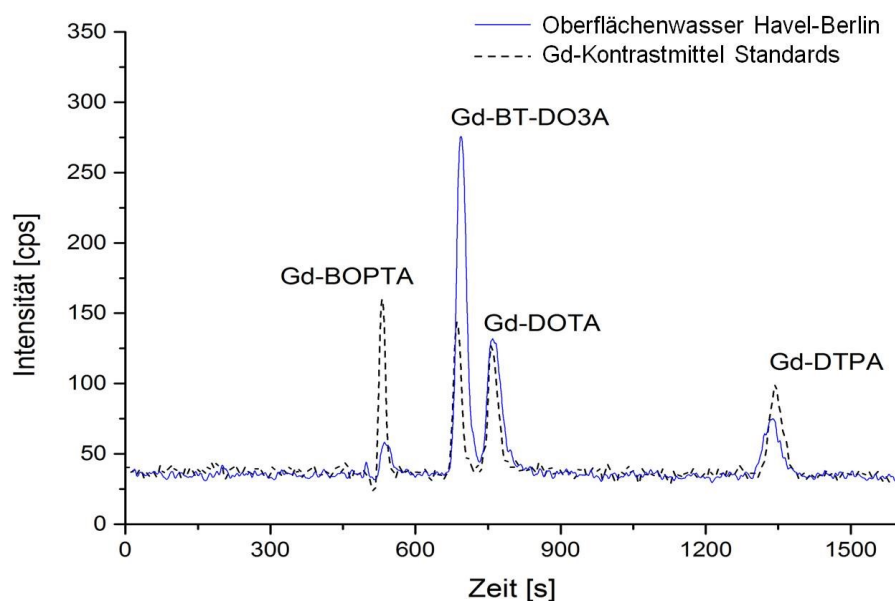


Abbildung 47: Gd-Chromatogramm des Oberflächenwassers Havel-Berlin (Nähe Wannsee). Gefundene Gd-Kontrastmittel: Gd-BOPTA, Gd-BT-DO3A, Gd-DOTA und Gd-DTPA.

Tabelle 54: Konzentration der gefundenen Gd-Kontrastmittel im Oberflächenwasser (Nähe Wannsee).

	Gd-BOPTA	Gd-BT-DO3A	Gd-DOTA	Gd-DTPA	Gesamt Gd
Mittelwert [ng Gd L ⁻¹]	11,6 ± 0,9	78,0 ± 2,0	34,7 ± 6,5	22,4 ± 0,4	146,6 ± 9,8

n = 3

In Trinkwasserproben aus Berlin-Westend wurde der zeitliche Konzentrationsverlauf von Gd-Kontrastmitteln über mehrere Monate analysiert (Abbildung 48). In allen Proben wurden jeweils die gleichen drei Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA, Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A gefunden. Es gibt einen leichten Anstieg der Gd-Kontrastmittel-Konzentrationen mit der Zeit.

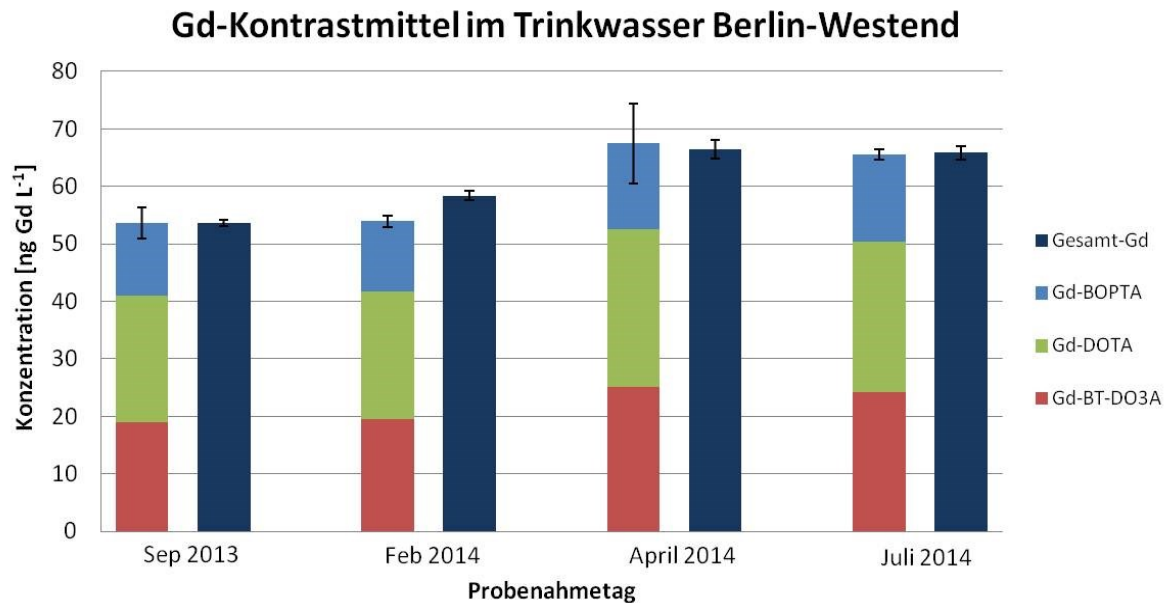


Abbildung 48: Gd-Kontrastmittel im Trinkwasser Berlin-Westend über einen Zeitraum von mehreren Monaten.

Eine Erklärung für diesen Anstieg kann z.B. die unterschiedliche Menge an Abwasser (Uferfiltration), die ins Grundwasser eingetragen wird, zurückgeführt werden, oder auf Verdünnungseffekte z.B. durch Regen. In Berlin wird das Trinkwasser aus Tiefbrunnen gewonnen, wobei ein Großteil des Wassers aus Uferfiltration stammt. Ein weiterer Teil stammt aus Oberflächenwasser, dass durch Sickerbecken dem Grundwasser in der Nähe der Tiefbrunnen beigefügt wird, da das Grundwasser allein nicht für die Versorgung von Berlin ausreicht. Dadurch kann sehr leicht das Oberflächenwasser, das Gd-Kontrastmittel durch urbanen Eintrag enthält, ins Trinkwasser gelangen. Da Oberflächenwasser in Berlin hauptsächlich westwärts fließt und geklärtes Wasser an verschiedenen Stellen in Berlin eingetragen wird, nimmt die Konzentration an Gadolinium bzw. Gd-Kontrastmitteln Richtung Westen zu. Deswegen werden im Westen von Berlin besonders hohe Gd-Konzentrationen ermittelt.

Vorige Studien zeigen, dass die gefundenen hohen Konzentration an Gd-Kontrastmittel keine Ausnahme sind. *Kulaskız und Bau* [26] zeigen hohe Gd-Anomalien in diversen Trinkwasserproben von Berlin, insbesondere im Westteil von Berlin, während im Ostteil von Berlin hingegen nur eine geringe oder keine Gd-Anomalie beobachtet wurde. Dies stimmt auch mit den Messdaten aus dieser Arbeit überein, bei der z.B. in Berlin-Adlershof keine stark erhöhten Gd-Konzentrationen ($2 \text{ ng L}^{-1} \text{ Gd}$) gefunden wurden. Hingegen wurden in

Berlin-Westend, Berlin-Salzufer und Berlin-Steglitz erhöhte Konzentrationen an Gadolinium und den Gd-Kontrastmitteln nachgewiesen.

Diese Analysen beweisen, dass der Eintrag der Gd-Kontrastmittel über Klärwerkwasser in die Oberflächengewässer und anschließend durch Uferfiltration und Grundwasseranreicherung ins Trinkwasser erfolgt. Damit gelangen die Gd-Kontrastmittel, die in Krankenhäusern und Kliniken eingesetzt werden, direkt in die Nahrungskette der Stadtbewohner. Interessant ist auch, dass Gd-BT-DO3A erst seit 2000 und Gd-DOTA erst seit 2003 in Deutschland kommerziell Anwendung finden und trotzdem sind diese Kontrastmittel hier schon im Trinkwasser nachgewiesen worden, sodass von einer hohen Mobilität und Persistenz der Gd-Kontrastmittel ausgegangen werden kann. Daher ist es denkbar, dass es zu einer Anreicherung dieser "Emerging Pollutants" im städtischen Wasserkreislauf kommt. Weil die Risiken und Toxizitäten noch nicht ausreichend untersucht sind, sollte die weitere Entwicklung verfolgt werden.

10 Zusammenfassung und Ausblick

Es wurden zwei Methoden zur Speziesanalytik von Gd-Kontrastmitteln mittels HPLC-ICP-MS entwickelt und optimiert, sowie eine Methode zur Detektion von Gd-Kontrastmitteln mittels HPLC-UV/VIS. Für die Methoden mittels HPLC-ICP-MS wurde die Zwitterionische Hydrophile Interaktionschromatographie verwendet. Hierbei kamen die Säulentypen ZIC-HILIC und ZIC-cHILIC zum Einsatz. Für die ZIC-HILIC ICP-MS ergeben sich Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von 40–63 ng Gd L⁻¹ und 119–190 ng Gd L⁻¹ je nach Gd-Kontrastmittel. Im späteren Verlauf der Arbeit stand die ZIC-cHILIC zur Verfügung. Hierbei konnten schmalere Peakbreiten und bessere Nachweisgrenzen erzielt werden. So wurden Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von 1–4 ng Gd L⁻¹ bzw. 5–12 ng Gd L⁻¹ je nach Gd-Kontrastmittel bestimmt. Für die ZIC-cHILIC ICP-MS Methode wurde anschließend ein interner Standard etabliert. Hierfür wurden die Komplexe Pr-DOTA und Sm-DTPA verwendet, die ähnliche Struktur und Retentionszeiten wie die Gd-Kontrastmittel aufweisen. Mit den internen Standards können sowohl Intensitätsdrifts des ICP-MS, als auch Matrix- oder Temperatureinfluss sowie Retentionszeitverschiebungen ausgeglichen werden. Damit konnte die relative Standardabweichung von 4,0 % auf 1,8 % verbessert werden.

Da Gd-Kontrastmittel in Umweltproben nur in sehr geringen Konzentrationen vorliegen, ist teilweise eine Anreicherung dieser Kontrastmittel notwendig. Dafür wurde einerseits eine Volumeneinengung durch mildes Verdampfen durchgeführt, als auch die Anreicherung auf Anionenaustauscher-Material (SAX), sowie die Anreicherung auf Aktivkohle. Für die Anreicherung auf SAX wurde sowohl eine vollständige Beladung der anionischen Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA, Gd-DOTA und Gd-BOPTA, als auch eine vollständige Elution erzielt. Auf Aktivkohle wurde ebenfalls eine vollständige Beladung aller Gd-Kontrastmittel (Gd-DTPA, Gd-DOTA, Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA, Gd-BT-DO3A) erzielt. Dies war sowohl aus Trinkwasser als auch aus Wasser mit hohen Salzkonzentrationen möglich. Die Elution der Gd-Kontrastmittel von Aktivkohlematerial war ebenfalls vollständig. Mit der Anreicherungsmethode konnten die Gd-Kontrastmitteln Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA aus Oberflächenwasser von Berlin-Adlershof mit einer Konzentration von 1,4 bzw. 0,8 ng Gd L⁻¹ nachgewiesen werden.

Zudem wurde eine Analyse vom Flusswasser des Teltowkanals, direkt an der Auslassstelle des Klärwerkes Stahnsdorf (bei Berlin) durchgeführt. Hierbei wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A mit einer Konzentration von 456 bzw. 471 ng Gd L⁻¹ detektiert.

Die Konzentrationen wurden über eine Distanz von 5 km flussabwärts verfolgt. Hierbei wurde lediglich eine Konzentrationsabnahme durch Verdünnungseffekte beobachtet. Es zeigte sich kein signifikanter Abbau oder Dekomplexierung der Gd-Kontrastmittel.

Fische aus dem Teltowkanal zeigen ebenfalls eine Gd-Anomalie. Dies deutet auf Gd-Kontrastmittel in den Fischen hin. Deswegen wurde eine wässrige Ultraschallextraktion von Gd-Kontrastmittel aus Fischfiletmatrix optimiert. Die Extraktion und anschließende Speziesanalytik von zwei Fischen aus dem Teltowkanal mittels HPLC-ICP-MS zeigte, dass im homogenen Gemisch aller inneren Organe die Gd-Kontrastmittel Gd-DOTA und Gd-BT-DO3A mit 108–114 ng Gd kg⁻¹ bzw. 68–81 ng Gd kg⁻¹ enthalten sind. Dies sind die gleichen Gd-Kontrastmittel, die auch im Oberflächenwasser an der Stelle der Fischentnahme gefunden wurden. In zukünftigen Untersuchungen sollte jedes Organ einzeln untersucht werden, um ein besseres Bild über die Aufnahme und Verteilung von Gd-Kontrastmittel in Fischen zu bekommen.

Die erneute Analyse von Oberflächenwasser an der Klärwerkauslasssstelle drei Jahre später zeigte zusätzliche Gd-Kontrastmittel und eine andere Konzentrationsverteilung. So wurden die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A (810 ng Gd L⁻¹), Gd-DPTA (198 ng Gd L⁻¹), Gd-DOTA (104 ng Gd L⁻¹) und Gd-BOPTA (31 ng Gd L⁻¹) gefunden. Von dort wurden diverse Pflanzen, die am Ufer in unmittelbarer Nähe zur Klärwerkauslasssstelle wuchsen, analysiert. In den Pflanzen wurden die gleichen Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A, Gd-DTPA, Gd-DOTA detektiert, die auch im Oberflächenwasser des Teltowkanals nachgewiesen wurden. Allerdings sind die Konzentrationen je nach Pflanze sehr unterschiedlich. Um den genauen Aufnahmeprozess in die Pflanzen zu verstehen, sollte in zukünftigen Analysen deswegen speziell der Pflanzentyp und -größe (Wurzelausdehnung) sowie der Bodentyp beachtet werden.

Ein weiterer Aspekt zum Transport der Gd-Kontrastmittel ist das Trinkwasser. Da die Gd-Kontrastmittel über längere Zeit im Oberflächenwasser stabil sind, wurde untersucht ob Gd-Kontrastmittel über Uferfiltration oder über Sickerbecken ins Trinkwasser gelangen können. Deswegen wurde in verschiedenen Haushalten in diversen Stadtteilen von Berlin Trinkwasser entnommen und mittels Speziesanalytik (HPLC-ICP-MS) analysiert. Hierbei wurden in den Proben aus Salzufer und Westend die Gd-Kontrastmittel Gd-BOPTA (10–11 ng Gd L⁻¹), Gd-BT-DO3A (15–18 ng Gd L⁻¹) und Gd-DOTA (17–19 ng Gd L⁻¹) gefunden. In den Trinkwasserproben aus Steglitz wurde zudem das Gd-Kontrastmittel Gd-DTPA

gefunden. In Trinkwasserproben aus dem Osten von Berlin wurde hingegen kein einziges Gd-Kontrastmittel nachgewiesen. Dies liegt vor allem an der Trinkwassergewinnung, da die Konzentration des Klärwerkwasser im Oberflächenwasser in Richtung Westen zunimmt. Ein interessanter Aspekt ist dabei, dass schon die Gd-Kontrastmittel Gd-BT-DO3A und Gd-DOTA in hohen Konzentration im Trinkwasser zu finden sind, obwohl diese erst seit 2000 bzw. 2003 in den Markt eingeführt wurden. Diesbezüglich kann von einer hohen Mobilität und Persistenz der Gd-Kontrastmittel ausgegangen werden.

Somit wird der Weg der Gd-Kontrastmittel aus den Krankhäusern und Kliniken, über die Klärwerke in die Oberflächengewässer und anschließend über Uferfiltration und Grundwasseranreicherung bis ins Trinkwasser und damit in die Nahrungskette möglich. Da die Zahl der Anwendungen von Gd-Kontrastmittel für die MRT in den letzten Jahren stark anstieg und auf Grund der Persistenz der Gd-Kontrastmittel sollte in Zukunft eine regelmäßige Überwachung von Trinkwasser und Umweltproben stattfinden. Diesbezüglich stehen die Analysemethoden aus dieser Arbeit zur Verfügung.

Zudem besteht der zukünftiger Forschungsbedarf darin aufzuklären, ob ein langfristiger Abbau der Gd-Kontrastmittel erfolgt und wo in der Umwelt eine Akkumulation stattfindet. Dies kann ein Beitrag sein, um die Risiken für die Umwelt zukünftig abschätzen zu können. Auch sollte darüber diskutiert werden, die Ursache des Eintrages von Gd-Kontrastmittel in die Umwelt dadurch zu lösen, dass der Eintrag in die Klärwerke bereits im klinischen Umfeld reduziert wird. In dieser Arbeit konnte bereits aufgezeigt werden, dass alle Kontrastmittel vollständig auf Aktivkohle gebunden werden können. Somit wäre der Recycling-Ansatz in Zeiten einer Ressourcenverknappung aus ökonomischen, aber auch aus ökologischen Gründen sinnvoll. Es wäre wünschenswert, wenn diese Arbeit dazu einen neuen sachlichen Diskussionsanstoß liefern könnte.

11 Literatur

1. Grobe TG, Dörning H, Schwartz FW (2011) BARMER GEK Arztreport 2011, Schwerpunkt: Bildgebende Diagnostik. Schriftreihe zur Gesundheitsanalyse, vol Band 6. ISEG, Institut für Sozialmedizin, Epidemiologie und Gesundheitssystemforschung, Hannover.
2. Telgmann L, Wehe CA, Birka M, Künnemeyer J, Nowak S, Sperling M, Karst U (2012) Speciation and isotope dilution analysis of gadolinium-based contrast agents in wastewater. *Environmental Science & Technology* 46 (21):11929-11936.
3. Bau M, Dulski P (1996) Anthropogenic origin of positive gadolinium anomalies in river waters. *Earth and Planetary Science Letters* 143 (1-4):245-255.
4. Verplanck PL, Taylor HE, Nordstrom DK, Barber LB (2005) Aqueous Stability of Gadolinium in Surface Waters Receiving Sewage Treatment Plant Effluent, Boulder Creek, Colorado. *Environmental Science & Technology* 39 (18):6923-6929.
5. Möller P, Morteani G, Dulski P (2003) Anomalous Gadolinium, Cerium, and Yttrium Contents in the Adige and Isarco River Waters and in the Water of Their Tributaries (Provinces Trento and Bolzano/Bozen, NE Italy). *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica* 31 (3):225-239.
6. Kulaksız S, Bau M (2007) Contrasting behaviour of anthropogenic gadolinium and natural rare earth elements in estuaries and the gadolinium input into the North Sea. *Earth and Planetary Science Letters* 260 (1-2):361-371.
7. Elbaz-Poulichet F, Seidel JL, Othoniel C (2002) Occurrence of an anthropogenic gadolinium anomaly in river and coastal waters of Southern France. *Water Research* 36 (4):1102-1105.
8. Morteani G, Moller P, Fuganti A, Paces T (2006) Input and fate of anthropogenic estrogens and gadolinium in surface water and sewage plants in the hydrological basin of Prague (Czech Republic). *Environmental Geochemistry and Health* 28 (3):257-264.
9. Knappe A, Möller P, Dulski P, Pekdeger A (2005) Positive gadolinium anomaly in surface water and ground water of the urban area Berlin, Germany. *Chemie der Erde* 65:167-189.
10. Rabiet M, Togola A, Brissaud F, Seidel JL, Budzinski H, Elbaz-Poulichet F (2006) Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. *Environmental Science & Technology* 40 (17):5282-5288.

11. Nozaki Y, Lerche D, Alibo DS, Tsutsumi M (2000) Dissolved indium and rare earth elements in three Japanese rivers and Tokyo Bay: Evidence for anthropogenic Gd and In. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 64 (23):3975-3982.
12. Zhu Y, Hoshino M, Yamada H, Itoh A, Haraguchi H (2004) Gadolinium anomaly in the distributions of rare earth elements observed for coastal seawater and river waters around Nagoya City. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 77 (10):1835-1842.
13. Lawrence MG, Jupiter SD, Kamber BS (2006) Aquatic geochemistry of the rare earth elements and yttrium in the Pioneer River catchment, Australia. *Marine and Freshwater Research* 57 (7):725-736.
14. Hennebrüder K, Wennrich R, Mattusch J, Stärk H-J, Engewald W (2004) Determination of gadolinium in river water by SPE preconcentration and ICP-MS. *Talanta* 63 (2):309-316.
15. Kulaksız S, Bau M (2013) Anthropogenic dissolved and colloid/nanoparticle-bound samarium, lanthanum and gadolinium in the Rhine River and the impending destruction of the natural rare earth element distribution in rivers. *Earth and Planetary Science Letters* 362:43-50.
16. Thieme Römpf Online. (2002) Georg Thieme Verlag. <https://roempf.thieme.de/>; Stand: 05.08.2014.
17. Peters PE, Zeitler E (1991) Röntgenkontrastmittel. Springer, Berlin.
18. Pineau C, Heinzmann B, Schwarz R-J, Wiemann M, Schulz C (2005) Getrennte Erfassung von iodorganischen Röntgenkontrastmitteln in Krankenhäusern, Phase 1: Machbarkeitsstudie, Abschlussbericht April 2005.
19. Krause W (2002) Contrast Agents I - Magnetic Resonance Imaging. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
20. Taupitz M (2005) Ein neues Kontrastmittel für die MRT auf der Basis Citrat-stabiler magnetischer Eisenoxid-Nanopartikel. Habilitation. Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin, Berlin.
21. Böhlke JK, de Laeter JR, De Bièvre P, Hidaka H, Peiser HS, Rosman KJR, Taylor PDP (2005) Isotopic compositions of the elements, 2001. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 34 (1):57-67.
22. Kramida A, Ralchenko, Yu., Reader, J., und NIST ASD Team (2013) Chemistry WebBook. National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg. <http://physics.nist.gov/asd>; Stand: 05.08.2014.

23. Sitzmann H (2005) Gadolinium. Georg Thieme Verlag. <https://roempp.thieme.de/>; Stand: 05.08.2014.
24. Lide RD (2010) Handbook of Chemistry and Physics. CRC Press, Boca Raton, Florida.
25. Darrah TH, Prutsman-Pfeiffer JJ, Poreda RJ, Campbell ME, Hauschka PV, Hannigan RE (2009) Incorporation of excess gadolinium into human bone from medical contrast agents. *Metallomics* 1 (6):479-488.
26. Kulaksız S, Bau M (2011) Anthropogenic gadolinium as a microcontaminant in tap water used as drinking water in urban areas and megacities. *Applied Geochemistry* 26 (11):1877-1885.
27. Idée JM, Port M, Medina C, Lancelot E, Fayoux E, Ballet S, Corot C (2008) Possible involvement of gadolinium chelates in the pathophysiology of nephrogenic systemic fibrosis: A critical review. *Toxicology* 248 (2-3):77-88.
28. Sherry AD, Caravan P, Lenkinski RE (2009) Primer on gadolinium chemistry. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 30 (6):1240-1248.
29. Idée J-M, Port M, Raynal I, Schaefer M, Le Greneur S, Corot C (2006) Clinical and biological consequences of transmetallation induced by contrast agents for magnetic resonance imaging: a review. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 20 (6):563-576.
30. Raymond KN, Pierre VC (2005) Next generation, high relaxivity gadolinium MRI agents. *Bioconjugate Chem* 16:3-8.
31. Gavin PR, Bagley RS (2009) Practical Small Animal MRI. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
32. Colletti PM (2008) Nephrogenic Systemic Fibrosis and Gadolinium: A Perfect Storm. *American Journal of Roentgenology* 191 (4):1150-1153.
33. Hermann P, Kotek J, Kubicek V, Lukes I (2008) Gadolinium(III) complexes as MRI contrast agents: ligand design and properties of the complexes. *Dalton Transactions* (23):3027-3047.
34. Reimer P, Vosschenrich R (2004) Kontrastmittel in der MRT. *Der Radiologe* 44 (3):273-283.
35. Kümmerer K, Helmers E (2000) Hospital Effluents as a Source of Gadolinium in the Aquatic Environment. *Environmental Science & Technology* 34 (4):573-577.
36. Möller P, Dulski P (2010) Transmetallation of Gd-DTPA by Cu, Y and lanthanides and its impact on the hydrosphere. *Applied Geochemistry* 25 (1):48-59.

37. Peh WCG, Cassar-Pullicinot VN (1999) Magnetic resonance arthrography: Current status. *Clinical Radiology* 54 (9):575-587.
38. Weinmann HJ, Brasch RC, Press WR, Wesbey GE (1984) Characteristics of Gadolinium-Dtpa Complex - a Potential Nmr Contrast Agent. *American Journal of Roentgenology* 142 (3):619-624.
39. Guggemos DB (2005) Phase-II-Studie zum Einsatz des extrazellulären Kontrastmittels Gadolinium-BOPTA in der MR-Tomografie der Brust: Tübinger Ergebnisse Dissertation. Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen, Tübingen.
40. FDA erteilt Zulassung für Dotarem® (Gadotersäure), das erste makrozyklische und ionische gadoliniumhaltige Kontrastmittel in den USA (2013) [na presseportal.presseportal.de/pm/64086/2442118/fda-erteilt-zulassung-fuer-dotarem-gadotersaeure-das-erste-makrozyklische-und-ionische](http://presseportal.de/pm/64086/2442118/fda-erteilt-zulassung-fuer-dotarem-gadotersaeure-das-erste-makrozyklische-und-ionische) (Stand: 28.10.2014).
41. Agency) EEM (2011) Zusammenfassung des EPAR für die Öffentlichkeit - Ablavar.
42. Drug Label Information (VASOVIST- gadofosveset trisodium injection) (2009).
43. Caravan P, Ellison JJ, McMurry TJ, Lauffer RB (1999) Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications. *Chemical Reviews* 99 (9):2293-2352.
44. Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B (2014) *Wie funktioniert MRI?* , vol 7. Auflage. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
45. Hauptinformationen zu gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln: Risiko für nephrogene systemische Fibrosen (NSF). (2010) Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM). bfarm.de/SharedDocs/Risikoinformationen/Pharmakovigilanz/DE/RI/2010/RI-gadolinium-hauptinfo.html (Stand: 28.10.2014).
46. Yan GP, Ai CW, Li LA, Zong RF, Liu F (2010) Dendrimers as carriers for contrast agents in magnetic resonance imaging. *Chinese Science Bulletin* 55 (27-28):3085-3093.
47. Li Y, Laurent S, Esser L, Elst LV, Muller RN, Lowe AB, Boyer C, Davis TP (2014) The precise molecular location of gadolinium atoms has a significant influence on the efficacy of nanoparticulate MRI positive contrast agents. *Polymer Chemistry* 5 (7):2592-2601.
48. Geninatti Crich S, Alberti D, Szabo I, Aime S, Djanashvili K (2013) MRI Visualization of Melanoma Cells by Targeting Overexpressed Sialic Acid with a GdIII-dota-en-pba Imaging Reporter. *Angewandte Chemie* 125 (4):1199-1202.

49. Mishra A, Logothetis NK, Parker D (2011) Critical In Vitro Evaluation of Responsive MRI Contrast Agents for Calcium and Zinc. *Chemistry-a European Journal* 17 (5):1529-1537.
50. Chen ZN, Li WS, Luo JA (2011) A gadolinium(III) complex with 8-amidequinoline based ligand as copper(II) ion responsive contrast agent. *Dalton Transactions* 40 (2):484-488.
51. Raghunand N, Jagadish B, Trouard TP, Galons JP, Gillies RJ, Mash EA (2006) Redox-sensitive contrast agents for MRI based on reversible binding of thiols to serum albumin. *Magnetic Resonance in Medicine* 55 (6):1272-1280.
52. Künnemeyer J, Terborg L, Meermann B, Brauckmann C, Möller I, Scheffer A, Karst U (2009) Speciation Analysis of Gadolinium Chelates in Hospital Effluents and Wastewater Treatment Plant Sewage by a Novel HILIC/ICP-MS Method. *Environmental Science & Technology* 43 (8):2884-2890.
53. Schwarzmüller-Erber G, Silberstein E (2010) *Angewandte Magnetresonanztomographie*. Facultas Verlags- und Buchhandel AG, Wien.
54. Caravan P (2009) Protein-Targeted Gadolinium-Based Magnetic Resonance Imaging (MRI) Contrast Agents: Design and Mechanism of Action. *Accounts of Chemical Research* 42 (7):851-862.
55. Schörner W, Laniado M, Niendorf HP, Schubert C, Felix R (1986) Time-Dependent Changes in Image-Contrast in Brain-Tumors after Gadolinium-Dtpa. *American Journal of Neuroradiology* 7 (6):1013-1020.
56. Brasch RC, Weinmann HJ, Wesbey GE (1984) Contrast-Enhanced Nmr Imaging - Animal Studies Using Gadolinium-Dtpa Complex. *American Journal of Roentgenology* 142 (3):625-630.
57. Schuhmann-Giampieri G, Schmitt-Willich H, Press WR, Negishi C, Weinmann HJ, Speck U (1992) Preclinical evaluation of Gd-EOB-DTPA as a contrast agent in MR imaging of the hepatobiliary system. *Radiology* 183 (1):59-64.
58. Schmitt-Willich H, Brehm M, Ewers CLJ, Michl G, Müller-Fahrnow A, Petrov O, Platzek J, Radüchel B, Sülzle D (1999) Synthesis and physicochemical characterization of a new gadolinium chelate: The liver-specific magnetic resonance imaging contrast agent Gd-EOB-DTPA. *Inorganic Chemistry* 38 (6):1134-1144.
59. Uggeri F, Aime S, Anelli PL, Botta M, Brocchetta M, Dehaen C, Ermondi G, Grandi M, Paoli P (1995) Novel Contrast Agents for Magnetic-Resonance-Imaging - Synthesis and Characterization of the Ligand Bopta and Its Ln(III) Complexes (Ln=Gd, La, Lu) - X-Ray

Structure of Disodium (Tps-9-145337286-C-S)-[4-Carboxy-5,8,11-Tris(Carboxymethyl)-1-Phenyl-2-Oxa-5,8,11-Triazatridecan-13-Oato(5-)]Gadolate(2-) in a Mixture with Its Enantiomer. *Inorganic Chemistry* 34 (3):633-642.

60. Annual Report (2005). Guerbet, guerbet.com

61. Tepe N, Romero M, Bau M (2014) High-technology metals as emerging contaminants: Strong increase of anthropogenic gadolinium levels in tap water of Berlin, Germany, from 2009 to 2012. *Applied Geochemistry* 45:191-197.

62. Reddersen K (2004) Das Verhalten von Arzneimittelrückständen im Wasserkreislauf Berlins. Dissertation. Technische Universität Berlin, Berlin.

63. Heberer T (2002) Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131 (1-2):5-17.

64. Heberer T (2002) Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology* 266 (3-4):175-189.

65. Evans CH (1990) Biochemistry of the lanthanides. Frieden, E. (Ed.), *Biochemistry of the Elements*. Plenum Press, New York.

66. Yang XC, Sachs F (1989) Block of Stretch-Activated Ion Channels in *Xenopus* Oocytes by Gadolinium and Calcium-Ions. *Science* 243 (4894):1068-1071.

67. Biagi BA, Enyeart JJ (1990) Gadolinium Blocks Low-Threshold and High-Threshold Calcium Currents in Pituitary-Cells. *American Journal of Physiology* 259 (3):C515-C520.

68. Molgo J, Delpozo E, Banos JE, Angautpetit D (1991) Changes of Quantal Transmitter Release Caused by Gadolinium Ions at the Frog Neuromuscular-Junction. *British Journal of Pharmacology* 104 (1):133-138.

69. Shellock FG, Spinazzi A (2008) MRI Safety Update 2008: Part I, MRI Contrast Agents and Nephrogenic Systemic Fibrosis. *American Journal of Roentgenology* 191 (4):1129-1139.

70. Cheng KT Gadobenate [Gd-BOPTA]. MICAD (Molecular Imaging and Contrast Agent Database).

71. Morisetti A, Bussi S, Tirone P, de Haen C (1999) Toxicological safety evaluation of gadobenate dimeglumine 0.5 M solution for injection (MultiHance (R)), a new magnetic resonance imaging contrast medium. *Journal of Computer Assisted Tomography* 23:S207-S217.

72. Vittadini G, Felder E, Tirone P, Lorusso V (1988) B-19036, a Potential New Hepatobiliary Contrast Agent for Mr Proton Imaging. *Investigative Radiology* 23:S246-S248.

73. Reinländer C (2003) MRT-Kontrastmittel für das Knochenmark: Vergleichende experimentelle Untersuchungen von USPIO, SPIO und Gd-DOTA. Dissertation. Medizinische Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.
74. Drug Label Information (MAGNEVIST- gadopentetate dimeglumine injection) (2013).
75. Marckmann P, Skov L, Rossen K, Dupont A, Damholt MB, Heaf JG, Thomsen HS (2006) Nephrogenic systemic fibrosis: Suspected causative role of gadodiamide used for contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Journal of the American Society of Nephrology* 17 (9):2359-2362.
76. Todd DJ, Kay J (1999) Nephrogenic systemic fibrosis: An epidemic of gadolinium toxicity. *Curr Rheumatol Rep* 10 (3):195-204.
77. Cowper SE, Robin HS, Steinberg SM, Su LD, Gupta S, LeBoit PE (2000) Scleromyxoedema-like cutaneous diseases in renal-dialysis patients. *The Lancet* 356 (9234):1000-1001.
78. Thakral C, Alhariri J, Abraham JL (2007) Long-term retention of gadolinium in tissues from nephrogenic systemic fibrosis patient after multiple gadolinium-enhanced MRI scans: case report and implications. *Contrast Media & Molecular Imaging* 2 (4):199-205.
79. Drug Label Information (DOTAREM - gadoterate meglumine injection) (2014).
80. Drug Label Information (OMNISCAN- gadodiamide injection) (2013).
81. Drug Label Information (MULTIHANCE- gadobenate dimeglumine injection, solution) (2013).
82. High WA, Ayers RA, Chandler J, Zito G, Cowper SE (2007) Gadolinium is detectable within the tissue of patients with nephrogenic systemic fibrosis. *Journal of the American Academy of Dermatology* 56 (1):21-26.
83. High WA, Ayers RA, Cowper SE (2007) Gadolinium is quantifiable within the tissue of patients with nephrogenic systemic fibrosis. *Journal of the American Academy of Dermatology* 56 (4):710-712.
84. Abraham JL, Thakral C, Skov L, Rossen K, Marckmann P (2008) Dermal inorganic gadolinium concentrations: evidence for in vivo transmetallation and long-term persistence in nephrogenic systemic fibrosis. *British Journal of Dermatology* 158 (2):273-280.
85. Grobner T (2006) Gadolinium - a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis? *Nephrology Dialysis Transplantation* 21 (6):1745-1745.

86. Broome DR, Girguis MS, Baron PW, Cottrell AC, Kjellin I, Kirk GA (2007) Gadodiamide-associated nephrogenic systemic fibrosis: Why radiologists should be concerned. *American Journal of Roentgenology* 188 (2):586-592.
87. Collidge TA, Thomson PC, Mark PB, Traynor JP, Jardine AG, Morris STW, Simpson K, Roditi GH (2007) Gadolinium-enhanced MR imaging and nephrogenic systemic fibrosis: Retrospective study of a renal replacement therapy cohort. *Radiology* 245 (1):168-175.
88. Prasad SR, Jagirdar J (2008) Nephrogenic systemic fibrosis/nephrogenic fibrosing dermopathy: A primer for radiologists. *Journal of Computer Assisted Tomography* 32 (1):1-3.
89. Gibson SE, Farver CF, Prayson RA (2006) Multiorgan involvement in nephrogenic fibrosing dermopathy - An autopsy case and review of the literature. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 130 (2):209-212.
90. Introcaso CE, Hivnor C, Cowper S, Werth VP (2007) Nephrogenic fibrosing dermopathy/nephrogenic systemic fibrosis: a case series of nine patients and review of the literature. *International Journal of Dermatology* 46 (5):447-452.
91. Bongartz G, Weishaupt D, Mayr M (2008) Neue Kontrastmittelproblematik bei Niereninsuffizienz: Gadolinium-induzierte Nephrogene Systemische Fibrose (NSF). *Schweiz Med Forum* 8 (7):116-123.
92. Cacheris WP, Quay SC, Rocklage SM (1990) The Relationship between Thermodynamics and the Toxicity of Gadolinium Complexes. *Magnetic Resonance Imaging* 8 (4):467-481.
93. Künnemeyer J, Terborg L, Nowak S, Telgmann L, Tokmak F, Kramer BK, Günzel A, Wiesmüller GA, Waldeck J, Bremer C, Karst U (2009) Analysis of the Contrast Agent Magnevist and Its Transmetalation Products in Blood Plasma by Capillary Electrophoresis/Electrospray Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 81 (9):3600-3607.
94. GE-Healthcare (Stand: 26 August 2013) Datasheet Omniscan.
95. Cabella C, Crich SG, Corpillo D, Barge A, Ghirelli C, Bruno E, Lorusso V, Uggeri F, Aime S (2006) Cellular labeling with Gd(III) chelates: only high thermodynamic stabilities prevent the cells acting as 'sponges' of Gd³⁺ ions. *Contrast Media & Molecular Imaging* 1 (1):23-29.
96. Möller P, Dulski P (2010) Gd-DTPA in the hydrosphere: Kinetics of transmetalation by ions of rare earth elements, Y and Cu. *Chemie Der Erde-Geochemistry* 70 (2):125-136.

97. May PM, Linder PW, Williams DR (1977) Computer-Simulation of Metal-Ion Equilibria in Biofluids - Models for Low-Molecular-Weight Complex Distribution of Calcium(II), Magnesium(II), Manganese(II), Iron(III), Copper(II), Zinc(II), and Lead(II) Ions in Human-Blood Plasma. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* (6):588-595.
98. Byrne RH, Lee JH, Bingler LS (1991) Rare-Earth Element Complexation by PO₄(³⁻) Ions in Aqueous-Solution. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 55 (10):2729-2735.
99. Neubert C (2008) Umweltverhalten und Ökotoxikologie von gadoliniumhaltigen Magnetresonanztomographie-Kontrastmitteln. Dissertation. Technische Universität Berlin, Berlin.
100. Tweedle MF, Hagan JJ, Kumar K, Mantha S, Chang CA (1991) Reaction of Gadolinium Chelates with Endogenously Available Ions. *Magnetic Resonance Imaging* 9 (3):409-415.
101. Puttagunta NR, Gibby WA, Puttagunta VL (1996) Comparative transmetallation kinetics and thermodynamic stability of gadolinium-DTPA bis-glucosamide and other magnetic resonance imaging contrast media. *Investigative Radiology* 31 (10):619-624.
102. Laurent S, Vander Elst L, Henoumont C, Muller RN (2010) How to measure the transmetallation of a gadolinium complex. *Contrast Media & Molecular Imaging* 5 (6):305-308.
103. Lyseng-Williamson K, Keating G (2009) Ferric carboxymaltose: a review of its use in iron-deficiency anaemia. *Drugs* 69 (6):739-756.
104. Magerstadt M, Gansow OA, Brechbiel MW, Colcher D, Baltzer L, Knop RH, Girton ME, Naegele M (1986) Gd(DOTA) - an Alternative to Gd(DTPA) as a T₁,₂ Relaxation Agent for NMR Imaging or Spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine* 3 (5):808-812.
105. Frenzel T, Lengsfeld P, Schirmer H, Hutter J, Weinmann HJ (2008) Stability of Gadolinium-Based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents in Human Serum at 37 degrees C. *Investigative Radiology* 43 (12):817-828.
106. Baranyai Z, Pálincas Z, Uggeri F, Maiocchi A, Aime S, Brücher E (2012) Dissociation Kinetics of Open-Chain and Macrocyclic Gadolinium(III)-Aminopolycarboxylate Complexes Related to Magnetic Resonance Imaging: Catalytic Effect of Endogenous Ligands. *Chemistry-a European Journal* 18 (51):16426-16435.
107. Port M, Idée JM, Medina C, Robic C, Sabatou M, Corot C (2008) Efficiency, thermodynamic and kinetic stability of marketed gadolinium chelates and their possible clinical consequences: a critical review. *Biometals* 21 (4):469-490.

108. Clarke ET, Martell AE (1991) Stabilities of Trivalent Metal-Ion Complexes of the Tetraacetate Derivatives of 12-Membered, 13-Membered and 14-Membered Tetraazamacrocycles. *Inorganica Chimica Acta* 190 (1):37-46.
109. Tsuruta T (2007) Accumulation of rare earth elements in various microorganisms. *Journal of Rare Earths* 25 (5):526-532.
110. Johannesson KH, Stetzenbach KJ, Hodge VF, Lyons WB (1996) Rare earth element complexation behavior in circumneutral pH groundwaters: Assessing the role of carbonate and phosphate ions. *Earth and Planetary Science Letters* 139 (1-2):305-319.
111. Kautenburger R, Nowotka K, Beck HP (2006) Online analysis of europium and gadolinium species complexed or uncomplexed with humic acid by capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384 (6):1416-1422.
112. Kautenburger R, Beck HP (2007) Complexation studies with lanthanides and humic acid analyzed by ultrafiltration and capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Chrom A* 1159 (1-2):75-80.
113. Wan YX, Liu CQ (2006) The effect of humic acid on the adsorption of REEs on kaolin. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 290 (1-3):112-117.
114. Yang LH, Wang XR, Sun H, Zhang HS (1999) The effect of EDTA on rare earth elements bioavailability in soil ecosystem. *Chemosphere* 38 (12):2825-2833.
115. Orientierende Messungen gefährlicher Stoffe; Landesweite Untersuchungen auf organische Spurenverunreinigungen in hessischen Fließgewässern, Abwässern und Klärschlämmen (Zusammenfassender Abschlussbericht 1991 - 2003; Kapitel 6) (2003). Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (HLUG), Hessen.
116. EDTA in Nordrhein-Westfalen - ein synthetischer Stoff in der aquatischen Umwelt (2003). Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MUNLV) und Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen (LUA NRW), Düsseldorf/Essen.
117. van Dam RA, Porter NA, Ahokas JT, Holdway DA (1999) Stability of DTPA and iron(III)-DTPA under laboratory ecotoxicological conditions. *Water Research* 33 (5):1320-1324.
118. Mika S, Aimo O (1996) Transportation of complexing agents released by pulp and paper industry: A Finnish lake case. *Toxicological & Environmental Chemistry* 57 (1-4):79-91.

119. Sillanpää M (1996) Complexing agents in waste water effluents of six Finnish pulp and paper mills. *Chemosphere* 33 (2):293-302.
120. Hinck ML, Ferguson J, Puhaakka J (1997) Resistance of EDTA and DTPA to aerobic biodegradation. *Water Science and Technology* 35 (2-3):25-31.
121. Means JL, Kucak T, Crerar DA (1980) Relative degradation rates of NTA, EDTA and DTPA and environmental implications. *Environmental Pollution Series B-Chemical and Physical* 1 (1):45-60.
122. Bolton H, Li SW, Workman DJ, Girvin DC (1993) Biodegradation of Synthetic Chelates in Subsurface Sediments from the Southeast Coastal-Plain. *Journal of Environmental Quality* 22 (1):125-132.
123. Ternes TA, Stumpf M, Steinbrecher T, Brenner-Weiss G, Haberer K (1996) Identifizierung und Nachweis neuer Metabolite des DTPA in Fließgewässern und Trinkwasser. *Vom Wasser* 87:275-290.
124. Egli T, Bucheli-Witschel M (2001) Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. *FEMS Microbiology Reviews* 25 (1):69-106.
125. Svenson A, Kaj L, Björndal H (1989) Aqueous Photolysis of the Iron (III) Complexes of NTA, EDTA and DTPA. *Chemosphere* 18 (9-10):1805-1808.
126. Frank R, Rau H (1990) Photochemical Transformation in Aqueous-Solution and Possible Environmental Fate of Ethylenediaminetetraacetic Acid (Edta). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 19 (1):55-63.
127. Kari FG, Hilger S, Canonica S (1995) Determination of the Reaction Quantum Yield for the Photochemical Degradation of Fe(III)-EDTA - Implications for the Environmental Fate of EDTA in Surface Waters. *Environmental Science & Technology* 29 (4):1008-1017.
128. Nowack B (1996) Behavior of EDTA in Groundwater - a Study of the Surface Reactions of Metal-EDTA Complexes. *swiss federal institute of technology, Zürich*.
129. Kari FG, Giger W (1995) Modeling the Photochemical Degradation of Ethylenediaminetetraacetate in the River Glatt. *Environmental Science & Technology* 29 (11):2814-2827.
130. Telgmann L, Faber H, Jahn S, Melles D, Simon H, Sperling M, Karst U (2012) Identification and quantification of potential metabolites of Gd-based contrast agents by electrochemistry/separations/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1240:147-155.

131. Holzbecher E, Knappe A, Pekdeger A (2005) Identification of degradation characteristics – exemplified by Gd–DTPA in a large experimental column. *Environmental Modeling & Assessment* 10 (1):1-8.
132. Condie KC (1991) Another look at rare earth elements in shales. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 55 (9):2527-2531.
133. Pourmand A, Dauphas N, Ireland TJ (2012) A novel extraction chromatography and MC-ICP-MS technique for rapid analysis of REE, Sc and Y: Revising CI-chondrite and Post-Archean Australian Shale (PAAS) abundances. *Chemical Geology* 291:38-54.
134. Markert B, Piehler H, Lieth H, Sugimae A (1989) Normalization and Calculation of Lanthanide Element Concentrations in Environmental-Samples. *Radiation and Environmental Biophysics* 28 (3):213-221.
135. Möller P, Paces T, Dulski P, Morteani G (2002) Anthropogenic Gd in surface water, drainage system, and the water supply of the city of Prague, Czech Republic. *Environmental Science & Technology* 36 (11):2387-2394.
136. Rabiet M, Togola A, Brissaud F, Seidel J-L, Budzinski H, Elbaz-Poulichet F (2006) Consequences of Treated Water Recycling as Regards Pharmaceuticals and Drugs in Surface and Ground Waters of a Medium-sized Mediterranean Catchment. *Environmental Science & Technology* 40 (17):5282-5288.
137. Rabiet M, Brissaud F, Seidel J-L, Pistre S, Elbaz-Poulichet F (2005) Deciphering the presence of wastewater in a medium-sized Mediterranean catchment using a multitracer approach. *Applied Geochemistry* 20 (8):1587-1596.
138. Massmann G, Sültenfuss J, Dünnebier U, Knappe A, Taute T, Pekdeger A (2008) Investigation of groundwater a residence times during bank filtration in Berlin: multi-tracer approach. *Hydrological Processes* 22 (6):788-801.
139. (2014) Berliner Wasserbetriebe. bwb.de/content/language1/html/981.php. Accessed 20.07.2014
140. Raju CSK, Cossmer A, Scharf H, Panne U, Lück D (2010) Speciation of gadolinium based MRI contrast agents in environmental water samples using hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (1):55-61.
141. 02.09 Entsorgung von Regen- und Abwasser (Ausgabe 2012). Senatsverwaltung für Stadtentwicklung und Umwelt.

142. Telgmann L, Wehe CA, Birka M, Künnemeyer J, Nowak S, Sperling M, Karst U (2012) Speciation and Isotope Dilution Analysis of Gadolinium-Based Contrast Agents in Wastewater. *Environmental Science & Technology* 46 (21):11929-11936.
143. Houk RS, Fassel VA, Flesch GD, Svec HJ, Gray AL, Taylor CE (1980) Inductively Coupled Argon Plasma As An Ion-Source For Mass-Spectrometric Determination Of Trace-Elements. *Analytical Chemistry* 52 (14):2283-2289.
144. Houk RS, Thompson JJ (1983) Trace-Metal Isotopic Analysis Of Microliter Solution Volumes By Inductively Coupled Plasma Mass-Spectrometry. *Biomedical Mass Spectrometry* 10 (2):107-112.
145. Jakubowski N (2008) Analytical plasma ion sources for elemental mass spectrometry: where are we coming from-where are we going to? *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (5):673-684.
146. Date AR, Gray AL (1981) Plasma Source-Mass Spectrometry Using An Inductively Coupled Plasma And A High-Resolution Quadrupole Mass Filter. *Analyst* 106 (1269):1255-1267.
147. Jakubowski N, Prohaska T, Rottmann L, Vanhaecke F (2011) Inductively coupled plasma- and glow discharge plasma-sector field mass spectrometry Part I. Tutorial: Fundamentals and instrumentation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (4):693-726.
148. Pröfrock D, Prange A (2012) Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) for Quantitative Analysis in Environmental and Life Sciences: A Review of Challenges, Solutions, and Trends. *Applied Spectroscopy* 66 (8):843-868.
149. Szpunar J, Lobinski R, Prange A (2003) Hyphenated techniques for elemental speciation in biological systems. *Applied Spectroscopy* 57 (3):102a-112a.
150. Bouyssiere B, Szpunar J, Lobinski R (2002) Gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in speciation analysis. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (5):805-828.
151. Dressler VL, Antes FG, Moreira CM, Pozebon D, Duarte FA (2011) As, Hg, I, Sb, Se and Sn speciation in body fluids and biological tissues using hyphenated-ICP-MS techniques: A review. *International Journal of Mass Spectrometry* 307 (1-3):149-162.

152. Popp M, Hann S, Koellensperger G (2010) Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry-A review. *Analytica Chimica Acta* 668 (2):114-129.
153. Álvarez-Llamas G, de laCampa MD, Sanz-Medel A (2005) ICP-MS for specific detection in capillary electrophoresis. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 24 (1):28-36.
154. Thomas R (2001) Spectroscopy tutorial - A beginner's guide to ICP-MS - Part II: The sample-introduction system. *Spectroscopy* 16 (5):56-60.
155. Wind M, Eisenmenger A, Lehmann WD (2002) Modified direct injection high efficiency nebulizer with minimized dead volume for the analysis of biological samples by micro- and nano-LC-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 17 (1):21-26.
156. Präfrock D, Leonhard P, Ruck W, Prange A (2005) Development and characterisation of a new interface for coupling capillary LC with collision-cell ICP-MS and its application for phosphorylation profiling of tryptic protein digests. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381 (1):194-204.
157. Birka M, Wehe CA, Telgmann L, Sperling M, Karst U (2013) Sensitive quantification of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents in surface waters using hydrophilic interaction liquid chromatography and inductively coupled plasma sector field mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1308:125-131.
158. Tittes W, Jakubowski N, Stüwer D, Tölg G (1994) Reduction Of Some Selected Spectral Interferences In Inductively-Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 9 (9):1015-1020.
159. Sheppard BS, Shen WL, Davidson TM, Caruso JA (1990) Helium - Argon Inductively Coupled Plasma For Plasma Source-Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 5 (8):697-700.
160. Durrant SF (1993) Alternatives To All-Argon Plasmas In Inductively-Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) - An Overview. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 347 (10-11):389-392.
161. Simon N (2005) *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook*. Blackwell Publishing Ltd.
162. Thomas R (2001) A Beginner's Guide to ICP-MS: Part III: The Plasma Source. *Spectroscopy* 16 (6):26-30.

163. Thomas R (2001) A beginner's guide to ICP-MS - Part IV: The interface region. *Spectroscopy* 16 (7):26-34.
164. Kläntschi N, Lienemann P, Richner P, Vonmont H (1996) *Elementanalytik*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg.
165. Thomas R (2001) Beginner's guide to ICP-MS - Part VI - The mass analyzer. *Spectroscopy* 16 (10):44-48.
166. Tanner SD, Baranov VI, Bandura DR (2002) Reaction cells and collision cells for ICP-MS: a tutorial review. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57 (9):1361-1452.
167. Bandura DR, Baranov VI, Tanner SD (2002) Detection of ultratrace phosphorus and sulfur by quadrupole ICPMS with dynamic reaction cell. *Analytical Chemistry* 74 (7):1497-1502.
168. Potter D (2008) A commercial perspective on the growth and development of the quadrupole ICP-MS market. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (5):690-693.
169. Beauchemin D (2010) Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 82 (12):4786-4810.
170. Beauchemin D (2010) Environmental Analysis by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 29 (4):560-592.
171. Campa C, Rossi M, Flamigni A, Baiutti E, Coslovi A, Calabi L (2005) Analysis of gadobenate dimeglumine by capillary zone electrophoresis coupled with electrospray-mass spectrometry. *Electrophoresis* 26 (7-8):1533-1540.
172. Harris DC (2002) *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*. Springer Verlag, Berlin.
173. Meyer VR (2004) *Praxis der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, aktualisierte 9. Auflage, Weinheim.
174. Hemström P, Irgum K (2006) Hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Separation Science* 29 (12):1784-1821.
175. Alpert AJ (1990) Hydrophilic-Interaction Chromatography for the Separation of Peptides, Nucleic-Acids and Other Polar Compounds. *Journal of Chromatography* 499:177-196.
176. Weber G, von Wirén N, Hayen H (2008) Hydrophilic interaction chromatography of small metal species in plants using sulfobetaine- and phosphorylcholine-type zwitterionic stationary phases. *Journal of Separation Science* 31 (9):1615-1622.

177. Viklund C, Sjögren A, Irgum K, Nes I (2001) Chromatographic interactions between proteins and sulfoalkylbetaine-based zwitterionic copolymers in fully aqueous low-salt buffers. *Analytical Chemistry* 73 (3):444-452.
178. Xie D, Mattusch J, Wennrich R (2010) Retention of arsenic species on zwitterionic stationary phase in hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Separation Science* 33 (6-7):817-825.
179. Appelblad P, Jonsson T, Pontén E, Viklund C, Jiang W (2008) A Practical Guide to HILIC. Merck Sequant, Umeå, Sweden.
180. Lämmerhofer M, Richter M, Wu JY, Nogueira R, Bicker W, Lindner W (2008) Mixed-mode ion-exchangers and their comparative chromatographic characterization in reversed-phase and hydrophilic interaction chromatography elution modes. *Journal of Separation Science* 31 (14):2572-2588.
181. Kahakachchi CL, Moore DA (2009) Speciation of gadolinium in gadolinium-based magnetic resonance imaging agents by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 24 (10):1389-1396.
182. Künemeyer J, Terborg L, Nowak S, Scheffer A, Telgmann L, Tokmak F, Günsel A, Wiesmüller G, Reichelt S, Karst U (2008) Speciation Analysis of Gadolinium-Based MRI Contrast Agents in Blood Plasma by Hydrophilic Interaction Chromatography/Electrospray Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 80 (21):8163-8170.
183. Xuan Y, Scheuermann EB, Meda AR, Hayen H, von Wirén N, Weber G (2006) Separation and identification of phytosiderophores and their metal complexes in plants by zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1136 (1):73-81.
184. Jandera P (2011) Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: a review. *Analytica Chimica Acta* 692:1-25.
185. Arbughi T, Bertani F, Celeste R, Grotti A, Sillari S, Tirone P (1998) High-performance liquid chromatographic determination of the magnetic resonance imaging contrast agent gadobenate ion in plasma, urine, faeces, bile and tissues. *Journal of Chromatography B* 713 (2):415-426.

186. Telgmann L, Wehe CA, Künnemeyer J, Bülter A-C, Sperling M, Karst U (2012) Speciation of Gd-based MRI contrast agents and potential products of transmetalation with iron ions or parenteral iron supplements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 (8):2133-2141.
187. Künnemeyer J, Terborg L, Nowak S, Brauckmann C, Telgmann L, Albert A, Tokmak F, Krämer BK, Günsel A, Wiesmüller GA, Karst U (2009) Quantification and excretion kinetics of a magnetic resonance imaging contrast agent by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Electrophoresis* 30 (10):1766-1773.
188. Loreti V, Bettmer J (2004) Determination of the MRI contrast agent Gd-DTPA by SEC-ICP-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 379 (7):1050-1054.
189. Cleveland D, Long SE, Sander LC, Davis WC, Murphy KE, Case RJ, Rimmer CA, Francini L, Patri AK (2010) Chromatographic methods for the quantification of free and chelated gadolinium species in MRI contrast agent formulations. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398 (7-8):2987-2995.
190. Krüger R, Braun K, Pipkorn R, Lehmann WD (2004) Characterization of a gadolinium-tagged modular contrast agent by element and molecular mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19 (7):852-857.
191. Sun H, Wang XR, Wang Q, Wang HT, Wang LS, Chen YJ, Dai LM, Cao M (1997) The effects of chemical species on bioaccumulation of rare earth elements in wheat grown in nutrient solution. *Chemosphere* 35 (8):1699-1707.
192. Giussani A, Heinrichs U, Roth P, Werner E, Schramel P, Wendler A (1998) Biokinetic studies in humans with stable isotopes as tracers. Part 1: A methodology for incorporation of trace metals into vegetables. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 34 (3):291-296.
193. Ishii N, Tagami K, Uchida S (2006) Removal of rare earth elements by algal flagellate *Euglena gracilis*. *Journal of Alloys and Compounds* 408:417-420.
194. Sun H, Wang XR, Wang LS, Dai LM, Li Z, Cheng YJ (1997) Bioconcentration of Rare Earth Elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae (*Chlorella Vulgarize Beijerinck*): Influence of chemical species. *Chemosphere* 34 (8):1753-1760.
195. Yang XY, Yin DQ, Sun H, Wang XR, Dai LM, Chen YJ, Cao M (1999) Distribution and bioavailability of rare earth elements in aquatic microcosm. *Chemosphere* 39 (14):2443-2450.

196. Tu Q, Wang XR, Tian LQ, Dai LM (1994) Bioaccumulation of the Rare-Earth Elements Lanthanum, Gadolinium and Yttrium in Carp (*Cyprinus-Carpio*). *Environmental Pollution* 85 (3):345-350.
197. Huntscha S, Singer HP, McArdell CS, Frank CE, Hollender J (2012) Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1268 (0):74-83.
198. Fritz JS, Macka M (2000) Solid-phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis. *Journal of Chromatography A* 902 (1):137-166.
199. Hennion MC (1999) Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 856 (1-2):3-54.
200. Krishnan KA (2008) Adsorption of nitrilotriacetic acid onto activated carbon prepared by steam pyrolysis of sawdust: Kinetic and isotherm studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects* 317 (1-3):344-351.
201. Krishnan KA, Sreejalekshmi KG, Varghese S, Anirudhan TS (2010) Removal of EDTA from Aqueous Solutions Using Activated Carbon Prepared from Rubber Wood Sawdust: Kinetic and Equilibrium Modeling. *Clean-Soil Air Water* 38 (4):361-369.
202. Kemmei T, Kodama S, Fujishima H, Yamamoto A, Inoue Y, Hayakawa K (2012) Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 709:54-58.
203. Hayama T, Yoshida H, Todoroki K, Nohta H, Yamaguchi M (2008) Determination of polar organophosphorus pesticides in water samples by hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22 (14):2203-2210.
204. Kawata K, Ibaraki T, Tanabe A, Yagoh H, Shinoda A, Suzuki H, Yasuhara A (2001) Gas chromatographic-mass spectrometric determination of hydrophilic compounds in environmental water by solid-phase extraction with activated carbon fiber felt. *Journal of Chromatography A* 911 (1):75-83.
205. Inagaki K, Haraguchi H (2000) Determination of rare earth elements in human blood serum by inductively coupled plasma mass spectrometry after chelating resin preconcentration. *Analyst* 125 (1):191-196.

206. Möller P, Dulski P, Luck J (1992) Determination Of Rare-Earth Elements In Seawater By Inductively Coupled Plasma Mass-Spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 47 (12):1379-1387.
207. Guéguen C, Dominik J, Perret D (2001) Use of chelating resins and inductively coupled plasma mass spectrometry for simultaneous determination of trace and major elements in small volumes of saline water samples. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 370 (7):909-912.
208. Hirata S, Kajiya T, Aihara M, Honda K, Shikino O (2002) Determination of rare earth elements in seawater by on-line column preconcentration inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* 58 (6):1185-1194.
209. Willie SN, Sturgeon RE (2001) Determination of transition and rare earth elements in seawater by flow injection inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 56 (9):1707-1716.
210. Shabani MB, Akagi T, Masuda A (1992) Preconcentration of Trace Rare-Earth Elements in Seawater by Complexation with Bis(2-Ethylhexyl) Hydrogen Phosphate and 2-Ethylhexyl Dihydrogen Phosphate Adsorbed on a C18 Cartridge and Determination by Inductively Coupled Plasma Mass-Spectrometry. *Analytical Chemistry* 64 (7):737-743.
211. Shabani MB, Akagi T, Shimizu H, Masuda A (1990) Determination Of Trace Lanthanides And Yttrium In Seawater By Inductively Coupled Plasma Mass-Spectrometry After Preconcentration With Solvent-Extraction And Back-Extraction. *Analytical Chemistry* 62 (24):2709-2714.
212. Ignatova SN, Maryutina TA, Spivakov BY, Karandashev VK (2001) Group separation of trace rare-earth elements by countercurrent chromatography for their determination in high-purity calcium chloride. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 370 (8):1109-1113.
213. Chinthalapati Siva Kesava R, Lück D, Scharf H, Jakubowski N, Panne U (2010) A novel solid phase extraction method for pre-concentration of gadolinium and gadolinium based MRI contrast agents from the environment. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (10):1573-1580.
214. Kemmei T, Kodama S, Muramoto T, Fujishima H, Yamamoto A, Inoue Y, Hayakawa K (2009) Study of solid-phase extraction for the determination of sequestering agents in river water by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1216 (7):1109-1114.

215. Knepper TP, Werner A, Bogenschütz G (2005) Determination of synthetic chelating agents in surface and waste water by ion chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1085 (2):240-246.
216. Chumanov RS, Burgess RR (2011) Artifact-inducing enrichment of ethylenediaminetetraacetic acid and ethyleneglycoltetraacetic acid on anion exchange resins. *Analytical Biochemistry* 412 (1):34-39.
217. Lindner U (2011) Verbleib von Gadolinium-MRI-Komplexen in der Umwelt. Diplomarbeit. Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin.
218. USP Gadopentetate Dimeglumine. newdruginfo.com/pharmacopeia/; Stand: 20.10.2014.
219. Benetollo F, Bombieri G, Calabi L, Aime S, Botta M (2003) Structural variations across the lanthanide series of macrocyclic DOTA complexes: Insights into the design of contrast agents for magnetic resonance imaging. *Inorganic Chemistry* 42 (1):148-157.
220. Wild SR, Jones KC (1992) Organic chemicals entering agricultural soils in sewage sludges: screening for their potential to transfer to crop plants and livestock. *Science of The Total Environment* 119:85-119.
221. Rehfeld-Klein M (2001) Abwasserbeseitigungsplan Berlin, vol Okt. Senatsverwaltung für Stadtentwicklung Abteilung VIII, Berlin.
222. Bittner R (2010) Wasserwirtschaftlicher Monatsbericht Oktober 2010. Senatsverwaltung für Gesundheit, Umwelt und Verbraucherschutz, Berlin
223. Lindner U, Lingott J, Richter S, Jakubowski N, Panne U (2013) Speciation of gadolinium in surface water samples and plants by hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405:1865-1873.

12 Eigene Publikationen

(1) „*Speciation of gadolinium in surface water samples and plants by hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry*”

Uwe Lindner, Jana Lingott, Silke Richter, Norbert Jakubowski und Ulrich Panne, *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405, 1865-1873.

(2) „*Der Nachweis von Gadolinium - Kontrastmittel in Oberflächengewässern und Pflanzen*”

Uwe Lindner, Jana Lingott, Norbert Jakubowski und Ulrich Panne, *GIT Labor Fachzeitschrift*, 2013, 7, 434-436.

(3) „*Detection of Gadolinium - Contrast Agents in Surface Water and Plants*”

Uwe Lindner, Jana Lingott, Norbert Jakubowski und Ulrich Panne, *Separation - Science & Applications*, 2014, 34, 20-23.

(4) „*Analysis of Gadolinium based contrast agents in tap water with a new hydrophilic interaction chromatography (ZIC-cHILIC) hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry*”

Uwe Lindner, Jana Lingott, Silke Richter, Wen Jiang, Norbert Jakubowski, Ulrich Panne, *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407 (9), 2415-2422.

(5) „*Gadolinium-uptake by aquatic and terrestrial organisms –distribution determined by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*”

Jana Lingott, Uwe Lindner, Lena Telgmann, Diego Esteban-Fernández, Norbert Jakubowski, Ulrich Panne, *Environmental Science Processes & Impacts*, 2016, 18, 200-207.

(6) „*Analysis of Lanthanoides by ICP-MS*”

Norbert Jakubowski, Lena Telgmann, Uwe Lindner, Jana Lingott, *Handbook of Rare Earth Elements: Analytics*, de Gruyter, Berlin, in print.

13 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Ich versichere, dass diese Arbeit in dieser oder anderer Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt wurde. Der Inhalt der geltenden Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Humboldt Universität zu Berlin von 2009 ist mir bekannt.

Berlin, den 01.08.2016

Uwe Lindner

14 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Ulrich Panne für die Ermöglichung dieses spannenden Themas und deren Finanzierung. Zudem möchte ich Dr. Norbert Jakubowski, Dr. Silke Richter und Jana Lingott danken, die mir immer für fachliche Ratschläge, Diskussionen und Ideen zur Seite standen. Mein Dank gilt auch Antje Cossmer für die Unterstützung am ICP-MS und beim Probenaufschluss, sowie Dr. Wen Jiang für die Bereitstellung der ZIC-chILIC und der umfangreichen Beratung.

Sehr großen Dank geht auch an Katja Ackermann, Dr. Silke Richter und allen Personen, die mich bei der Beschaffung der Umweltproben unterstützt haben. Und natürlich vielen Dank für die warme Atmosphäre in meinem Fachbereich, in dem ich mich sehr wohl gefühlt habe.